

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DO SISTEMA  
ELÁSTICO DO COLÉDOCO SUPRADUODENAL  
HUMANO NORMAL E COM LITÍASE**

S192c Sampaio, José Artur

Contribuição ao estudo do sistema elástico do colédoco supraduodenal humano normal e com litíase / José Artur Sampaio; orient. Luiz Pereira-Lima, co-orient. João Pedro Marques Pereira. — Porto Alegre: UFRGS, 1996.

xxii, 68 f.: il. color.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Curso de Pós-Graduação em Medicina: Cirurgia.

1. Ducto biliar comum. 2. Anatomia. 3. Patologia. 4. Colelitíase. 5. Tecido elástico. I. Pereira-Lima, Luiz Maraninchi. II. Pereira, João Pedro escobar Marques. III. Título.

C.D.D. 611.36

C.D.U. 611.36-018.2

Ficha catalográfica elaborada pela biblioteca FAMED/HCPA

JOSÉ ARTUR SAMPAIO

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DO SISTEMA ELÁSTICO  
DO COLÉDOCO SUPRADUODENAL HUMANO NORMAL E  
COM LITÍASE**

Professor Orientador

***Luiz Pereira-Lima***

Professor Titular da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre e Adjunto da  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Professor Co-orientador

***João Pedro Marques Pereira***

Professor Titular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e da Fundação Faculdade Federal de  
Ciências Médicas de Porto Alegre.

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
apresentada no Curso de Pós-  
Graduação em Medicina, área de  
Cirurgia, da Universidade Federal  
do Rio Grande do Sul.

Porto Alegre, RS, 1996.

*Aos meus pais, cujo profundo amor e dedicação propiciaram  
a expansão de minha individualidade;*

*Aos meus avós sempre presentes;*

*Ao meu irmão, com o orgulho que marca  
nossa juventude;*

*Aos meus tios, pelo apoio e admiração  
recíprocos.*



## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luiz Pereira-Lima, que jamais abandonou a busca do saber e do ensinar, tornando-se Mestre exemplar e inesquecível amigo, proporcionando a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. João Pedro Marques Pereira, cujo estímulo e dedicação foram fundamentais durante todo o curso deste estudo.

Ao Prof. Dr. Senno Otto Kunrath, que, com total disposição, colaborou na coloração e análise das lâminas.

Ao colega e amigo Dr. Fábio Luiz Waechter, pela prestatividade na coleta de material.

Ao laboratório de Anatomia Patológica da FFFCMPA, pela montagem das lâminas em parafina.

À amiga Srta. Valéria Bicca Calderan, pelo empenho infindável.

Ao Curso de Pós-Graduação da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, nas pessoas dos Profs. Orlando Wender, Cleber Pinto Kruel e Walter Koff, que proporcionaram a conclusão de meu curso de mestrado no mesmo local onde obtive minha formação cirúrgica.

Aos meus amigos, que assim permaneçam.

## ÍNDICE

1. SINOPSE .....	01
2. SYNOPSIS .....	03
3. INTRODUÇÃO .....	05
4. OBJETIVOS .....	18
5. MATERIAL E MÉTODO .....	19
6. RESULTADOS .....	24
7. DISCUSSÃO .....	49
8. CONCLUSÕES .....	59
9.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

## 1. SINOPSE

## SINOPSE

Esta dissertação tem o objetivo de identificar a presença das fibras elásticas, elaunínicas e oxitalânicas (sistema elástico por definição) na parede coledociana normal e evidenciar suas possíveis alterações na presença de coledocolitíase. Para tanto, foram retirados onze espécimes de biópsia, sendo três de colédocos normais e oito de colédocos dilatados (coledocolitíase), processando-se o material para microscopia ótica.

As peças foram coradas com coloração padrão de hematoxilina e eosina, coloração seletiva para fibras elásticas através de orcinol-neofucsina, resorcina-fucsina com e sem oxidação e coloração específica de colágeno pela técnica de picrosirius. Foi adotada a divisão da parede do colédoco em três camadas, sendo elas interna, média e externa. A presença do sistema elástico foi identificada no colédoco normal e no patológico, constituído de seus três tipos de fibras: elásticas, elaunínicas e oxitalânicas.

No colédoco do grupo controle (normal), a predominância de fibras elásticas era facilmente observada, situando-se, quase exclusivamente, na camada interna. A espessura da parede determinava-se pela marcante presença de fibras colágenas do tipo I e III.

Na vigência de coledocolitíase, foram encontrados grande espessamento da parede e uma importante hiperplasia do sistema elástico, conferida em sua maioria pelas fibras elásticas. Houve modificação do padrão de localização das fibras, passando estas a determinarem a espessura da parede coledociana,

principalmente ao nível da camada média, a qual, anteriormente, era escassa de sistema elástico no colédoco normal. A presença de fibrose colágena frente ao processo inflamatório mostrou-se chamativa.

Estas evidências sugerem um aumento da resitência da parede do colédoco supraduodenal humano quando da presença de litíase da via biliar principal, tentando preservar a integridade da mesma.

## 2. SYNOPSIS



## SYNOPSIS

This study has the aim of identifying the presence of elastic, elaunin and oxitalan (elastic system) fibers in the normal common bile duct and to evidencing their possible alteration in the presence of choledocholithiasis. Therefore eleven biopsies were collected, being three of them normal and eight dilated, processing the gathered material to optic microscopy.

These biopsies were colored with Hematoxilin-Eosin and after that, were studied with selected colouring for elastic fibers (Orcinol-Neofucsin, Resorcin-Fucsin, with and without oxidation) and specific colouring for collagen fibers (Sirius-Red technique). The division of the common bile duct was settled in three coats, being them internal, medial and external. The presence of the elastic system was identified in the normal and pathologic bile duct formed by its three fiber types: elastic, elaunin and oxitalan.

In the common bile duct of the control group (normal) predominated elastic fibers which were easily observed, establishing themselves almost exclusively in the internal coat. The duct thickness was determined by a considerable number of collagen fibers from type I and III.

In the presence of choledocholithiasis was found a vast duct thickness and an important elastic system hyperplasia, which was seen essentially in the elastic fibers. There was a change in the distribution of the fibers pattern that started to determine the thickness of the common bile duct. This was observed mainly in the medial coat, distinguishing from the normal bile duct which

presented the lowest quantity. The presence of collagen fibrosis in the inflammatory process was emphasized.

These evidences suggest an increase in the common bile duct resistance in the presence of choledocholithiasis, trying to preserve its integrity.



### 3. INTRODUÇÃO

## INTRODUÇÃO

Os estudos da histologia fundamental de diversos órgãos e estruturas, componentes da arquitetura humana, têm sido amplamente realizados com o intuito de alcançar respostas às alterações sofridas mediante determinadas patologias (Junqueira e Carneiro, 1990).

Através destas pesquisas foi conseguido, com o passar dos anos, incrementar o conhecimento da unidade celular e da matriz extracelular, chegando-se à evidência da necessidade mútua existente entre ambas, a qual é essencial para o perfeito funcionamento biológico (Pereira-Lima, 1972; Pereira-Lima 1981; Junqueira e Carneiro, 1990).

Nos organismos multicelulares, como no ser humano, existem diferentes tipos de células com distintas funções, as quais, para serem executadas necessitam de estímulos específicos. Alguns desses elementos celulares devem permanecer unidos, outros separados e, por fim, o restante em constante atividade funcional. Para o desempenho adequado, a matriz extracelular proverá um meio favorável a cada estirpe celular, portanto, deverão existir várias e iniguais constituições de meios intercelulares capazes de alcançar esse objetivo (Oliveira, 1993).

É importante frisar que uma única célula pode desempenhar diversas funções, todas de vital importância, sem perder suas características próprias. Por outro lado, a especialização celular aparece como fator dominante quando se visualiza o desenvolvimento filogenético das espécies, isto é, quanto mais

desenvolvido o ser, maior número de células especializadas serão conhecidas (Trindade, 1990).

As comunicações intercelulares, existentes entre diferentes tecidos formados, são necessárias para a realização das trocas vitais que mantêm a homeostase biológica. Isto prova que a unidade celular não é independente, proporcionando que os tecidos se comportem como um todo, apresentando atividades fisiológicas coletivas (Junqueira e Carneiro, 1990).

Os tecidos conjuntivos apresentam, morfologicamente, algumas características próprias, como a presença de diversos tipos celulares, separados por abundante material intercelular nele produzido. Este material é definido por uma parte macroscópica, as fibras do conjuntivo, e por uma parte não estruturada, a substância amorfa (Junqueira e Carneiro, 1990).

As fibras do conjuntivo são de três tipos principais: colágenas, reticulares e elásticas. Estas podem co-existir em um mesmo tecido. Muitas vezes as fibras predominantes são responsáveis pela característica do tecido. Os tecidos deste grupo desempenham as funções de sustentação, defesa, preenchimento e nutrição. Entretanto, as duas principais funções são a de sustentação e preenchimento, verdadeiramente obscurecendo as restantes. O colágeno é a proteína mais abundante do corpo humano, representando 30% da totalidade das mesmas. Já as fibras reticulares são formadas pela união do colágeno a um elevado teor de glicoproteínas, sendo estas particularmente abundantes na formação do arcabouço dos órgãos hematopoiéticos. As fibras elásticas distinguem-se facilmente das colágenas por serem mais delgadas e, quando

submetidas à tração, cederem facilmente, retornando rapidamente à sua formação usual (Junqueira e Carneiro, 1990).

## O SISTEMA ELÁSTICO

Os primeiros relatos sobre estruturas com características elásticas datam de 1759, através de Fleming, o qual foi o responsável pelo reconhecimento da elasticidade do sistema vascular (Hass, 1939). A caracterização histológica foi, posteriormente, estudada por Henle em 1841, segundo Policard et al., em publicação de 1939.

A capacidade de distensibilidade de muitos órgãos que são submetidos transitoriamente à forças internas e externas está atribuída à presença de componentes fibrosos com características elásticas. Estes componentes possuem a propriedade de restaurar a forma original do órgão o qual estruturam. Este fenômeno é tipicamente observado nos pulmões, aorta, pele, tendões e ligamentos (Fawcett, 1986).

A fibra elástica é constituída de duas porções: a **amorfa** e central, contendo elastina, e a de aspecto **microfibrilar**, formada de glicoproteínas, diferenciando-se completamente da primeira. Ficou demonstrado através do estudo de Ross et al. em 1969, que as microfibrilas são digeríveis por enzimas, tais como a pepsina, tripsina e quimiotripsina, ao contrário da elastina, só digerível pela elastase.



No processo de desenvolvimento de uma fibra elástica, o componente microfibrilar é o primeiro a aparecer, sendo, posteriormente, depositada a elastina. Durante a elastogênese, as microfibrilas surgem como agregados que, gradativamente, assumem a forma e a direção da futura fibra elástica. Com o amadurecimento desta fibra, a elastina começa a ser sintetizada entre cada feixe de material microfibrilar (Cotta-Pereira, 1984).

Muitas técnicas foram desenvolvidas com o objetivo de corar, de maneira adequada e fidedigna, as fibras do sistema elástico. Dentre estas podemos ressaltar: orceína (Unna 1890), resorcina-fucsina (Weigert 1898), hematoxilina férrica (Verhoeft 1908), aldeído fucsina (Gomori 1950) e orcinol neofucsina (Fullmer et al., 1956), sendo todas utilizadas contemporaneamente.

Através do uso do aldeído fucsina, com oxidação prévia pelo ácido paracético, Fullmer et al., em 1958, verificaram, no ligamento periodôntico humano, a presença de diversas fibras que se coravam em púrpura brilhante, interpostas por outras que não reagiam à coloração. Aquelas que não coravam com aldeído fucsina eram supostamente do sistema colágeno. Já as que reagiam em púrpura brilhante não eram coradas por técnicas específicas para fibras reticulares, nem tampouco para fibras nervosas, também não aparecendo quando eram usados hematoxilina férrica e orcinol neofucsina, ambos corantes para fibras elásticas (Oliveira, 1993). Estas fibras foram denominadas **oxitalânicas**, por serem resistentes à solubilização em ácido, em oposto ao colágeno (Fullmer et al., 1958; Fullmer et al., 1974).

Com as técnicas seletivas anteriormente citadas, precedidas de oxidação pelo ácido paracético, as fibras oxitalânicas eram visualizadas, excetuando-se os métodos da hematoxilina férrica e orcinol neofucsina. Sampson, em 1979, realizou um estudo sobre as afinidades tintoriais das fibras oxitalânicas, confirmando que, tanto as oxitalânicas como as elásticas, são afins aos mesmos corantes, desde que seja realizada a oxidação prévia dos cortes.

Seria demonstrado, posteriormente, que as fibras oxitalânicas são constituídas de microfibrilas tubulares, idênticas às microfibrilas elásticas, porém não apresentando material amorfo central (Cotta-Pereira, 1984). Deste modo chegou-se à conclusão que as fibras oxitalânicas constituem a primeira etapa no processo de elastogênese, pois já é sabido que o primeiro componente a aparecer é a microfibrila (Cotta-Pereira, 1977). Segundo ainda Cotta-Pereira, em outra publicação de 1984, a fibra oxitalânica do adulto é uma fibra que estacionou em seu desenvolvimento e não adquiriu elastina.

Este tipo de fibra tem sido descrito como sendo possuidor de qualidades de resistência e força mecânica, como mostrado nos estudos de Hasegawa (1960), Bittencourt et al. (1971), Cotta-Pereira et al., (1976), Allodi (1983), Rodrigo et al., (1975), Trindade (1990), Wacui et al., (1991). Gawlik (1965) observou que certas fibras, em determinadas regiões, apresentavam estrutura intermediária entre as fibras oxitalânicas e elásticas, as quais foram reconhecidas através da resorcina-fucsina, orceína e aldeído-fucsina, mesmo sem oxidação prévia pelo ácido paracético. A estas fibras denominou **elaunínicas**.



No estudo de Gawlik (1965), realizado em aortas de embriões humanos, foi verificado que as lâminas elásticas apresentavam afinidades tintoriais semelhantes às das fibras oxitalânicas, mas, com o passar do tempo, se comportavam como elaunínicas e, por fim, eram coradas pelas técnicas seletivas para fibras elásticas, o que sugeria que tais fibras se mostravam de maneira sequencial durante a elastogênese normal. Além disto, as fibras oxitalânicas e elaunínicas podem ser encontradas em tecidos adultos, como elementos independentes ou fazendo parte da sequência do desenvolvimento das fibras elásticas (Gawlik, 1965).

Cotta-Pereira et al., (1976); Cotta-Pereira (1977), descreveram ultra-estruturalmente as fibras elaunínicas como sendo constituídas de microfibrilas tubulares e apresentando escasso material amorfo de permeio. Este padrão estrutural foi constatado por outros autores, dentre eles: Cotta-Pereira (1977, 1984); Cotta-Pereira et al. (1976, 1989), Rodrigo et al., (1975), Boeck et al. (1984), Ferreira et al., (1987), Chavier et al., (1988).

Gawlik, em 1965, designou como “fibras do sistema elástico” os três tipos de fibras supra mencionados. Posteriormente, Cotta-Pereira em 1977, sugeriram que as microfibrilas são o elo entre os três tipos de fibras, propondo a manutenção da designação de “fibras do sistema elástico”.

A presença de fibras do sistema elástico, oxitalânicas, elaunínicas e elásticas, pode representar o processo normal da elastogênese, porém, no indivíduo adulto, pode manifestar o resultado de uma parada no desenvolvimento da fibra elástica, por fatores desconhecidos (Cotta-Pereira et

al., 1989). Assim, à medida que ocorre o desenvolvimento embrionário, as fibras vão estabelecendo a sua composição definitiva de fibras de resistência mecânica (oxitalânicas e elaunínicas) ou adquirem elasticidade (elásticas) (Cotta-Pereira, 1984).

## HISTOLOGIA COLEDOCIANA

O colédoco humano é sede freqüente de comprometimento patológico devido à conhecida alta freqüência de colelitíase. Torna-se, assim, importante o conhecimento de sua estrutura normal, além das possíveis alterações que podem ocorrer nos processos obstrutivos de via biliar principal. Sua histologia fundamental foi estudada e descrita tanto em sua conformação normal (Pereira-Lima, 1981) como patológica e/ou dilatada (Cecconello, 1979).

A via biliar extra-hepática apresenta um epitélio simples colunar alto, rico em mitocôndrias e intercalado por células mucoprodutoras. Este epitélio está embasado sobre tecido conjuntivo rico em fibras elásticas, distribuindo-se no córion da mucosa, formando assim a camada interna. O principal componente da camada média é o colágeno, com ausência completa de fibras musculares lisas, sendo também possível observar estruturas glandulares, vasos sangüíneos e tecido nervoso. Já na camada externa, são apreciadas uma rica rede vascular, além de grande quantidade de feixes nervosos, havendo poucas fibras colágenas e elásticas (Pereira-Lima, 1981).

Tema de grande controvérsia é o da presença, ou não, de estruturas musculares constituindo a parede, propriamente dita, do colédoco.



Alfredo Negri, em 1935, investigou 60 vias biliares extra-hepáticas, sendo destas 30 normais e 30 patológicas. Distinguiu duas camadas no colédoco, uma interna ou mucosa e outra externa ou fibroelástica. Referiu a presença de fibras musculares, tanto no colédoco como no hepático comum (Negri, 1941).

Opinião diametralmente oposta é a de Narciso Hernandez. Este autor tanto em estudos de anatomia microscópica, como em observações colangiográficas, ratifica com clareza a ausência de fibrocélulas musculares lisas próprias do órgão e, assim, nega a existência de peristaltismo como corolário da presença de fibras musculares (Hernandez, 1951).

Sterling, em 1955, descreveu uma camada externa de fibras musculares orientadas principalmente no sentido longitudinal, a qual não foi encontrada em apenas 7% dos casos estudados (Sterling, 1955).

Myers em 1962, estudaram 24 colédocos provenientes de necrópsias, não encontrando fibrocélulas musculares lisas em nenhum material analisado (Myers, 1962).

Ludwik observou tecido muscular liso, situando-se este abaixo do epitélio, a que denominou de “muscularis mucosae” (Ludwik, 1966).

Pera e Fernandez-Cruz, em 1970, registraram que, ao nível do colédoco, a musculatura da via biliar assume uma disposição espiral oblíqua, quase longitudinal (Pera et al., 1970).

Cecconello, em 1979, realizou estudo em 45 colédocos de pacientes portadores de litíase, afirmando que o colédoco é constituído, fundamentalmente, por tecido conjuntivo rico em fibras elásticas, não apresentando camada muscular definida (Cecconello, 1979).

Pereira-Lima, em 1981, destaca que o colédoco supraduodenal humano apresenta padrão histológico constante e definido, não possuindo fibrocélulas musculares lisas que constituam tecido próprio incorporado à parede coledociana (Pereira-Lima, 1981).

Junqueira e Carneiro ressaltam que o colédoco é revestido por uma mucosa constituída por células prismáticas altas e ricas em mitocôndrias. É encontrado tecido conjuntivo escasso, formando uma delgada lâmina própria, envolta por uma discreta camada de músculo liso, tornando-se mais espessa à medida que o ducto se aproxima do duodeno (Junqueira e Carneiro, 1990).

## **HISTOPATOLOGIA DA VIA BILIAR PRINCIPAL**

É sabido que toda e qualquer obstrução ao fluxo biliar, a exemplo do que ocorre na coledocolitíase, causa estase e infecção intraluminal, podendo levar a alterações macroscópicas e microscópicas, sendo a primeira observada no decorrer do procedimento cirúrgico, enquanto que a seguinte necessita de exame laboratorial minucioso (Andrade et al., 1967; Pinotti, 1978; Cecconello, 1979).

As alterações histopatológicas do colédoco supraduodenal humano, decorrentes da obstrução ao fluxo biliar normal, já haviam sido relatadas por Negri em seu estudo de 30 vias biliares patológicas (Negri, 1941). Neste estudo, foi evidenciada a hipertrofia sofrida pelo tecido muscular, com diminuição notória de fibras elásticas. Em outro trabalho, Cecconello em 1979, reconheceu alterações desde a camada sub-epitelial até a adventícia (Cecconello, 1979).

Em muitos casos, o processo inflamatório decorrente da patologia primária é caracterizado por proliferação de tecido conjuntivo, havendo desaparecimento das fibras elásticas, notando-se substituição por fibras colágenas. Infiltração leucocitária, alterações glandulares como atrofia, dilatação ou hiperplasia, neoformação vascular e hipertrofia de fibras nervosas periféricas também foram verificadas ao estudo microscópico (Cecconello, 1979).

As alterações histológicas e ultraestruturais da árvore biliar foram observadas de maneira marcante nos pacientes com dilatação da via biliar principal. Com o auxílio da microscopia eletrônica ficou viável a comparação de incidências de modificações da estrutura do colédoco entre situações de normalidade e dilatação (Lygidakis, 1981, 1984; Lygidakis et al., 1989).

Em vias biliares não dilatadas, a superfície da luz coledociana apresenta-se com padrão organizado. Entretanto, nas dilatações biliares as modificações são facilmente observadas. Nestas circunstâncias, a parede se encontra espessada e com um infiltrado inflamatório sub-epitelial. O processo está



associado com um marcado incremento de material fibroso, levando à fibrose ductal. Na microscopia eletrônica, as mudanças observadas são as formações de depressões tipo crateras, as quais se estendem até o tecido conjuntivo sub-epitelial (Lygidakis, 1984).

## **COLEDOCOLITÍASE**

O grande alento ao estudo da coledocolitíase deve-se à introdução da colangiografia intra-operatória (Mirizzi, 1945) e os avanços das técnicas operatórias convencionais.

Os cálculos coledocianos são divididos em primários e secundários. Os cálculos secundários se apresentam como uma complicação da litíase vesicular, a qual despeja os mesmos na via biliar principal. Já os primários são formados no interior do colédoco, porém sua verdadeira incidência permanece desconhecida (DenBesten et al., 1981), podendo variar de 4% (Saharia et al., 1977) até 56% (Madden, 1973). Em geral, é aceita a determinação de que a maioria dos cálculos coledocianos são provenientes da vesícula, porém cálculos biliares no colédoco, em pacientes com agenesia de vesícula, proporcionam uma prova absoluta da possibilidade da origem primária. Entretanto, é extremamente difícil demonstrar que um cálculo tenha origem coledociana em presença da vesícula biliar (Girard et al., 1990).

A detecção e tratamento definitivo de cálculos do colédoco, assim como a prevenção de cálculos residuais e recidivantes, permanecem como um grande desafio aos cirurgiões das vias biliares. O colédoco é explorado em 15% das

colecistectomias e são extraídos cálculos em 65% destas explorações. A incidência de coledocolitíase associada à colelitíase varia de 8% a 15%, segundo diferentes autores (Way et al., 1972; McSherry et al., 1980; Doyle et al., 1982; Lygidakis, 1981; Schwartz, 1984). Afora isto, podemos observar índices de 3 a 7% de cálculos não suspeitados, quando da realização de colangiografia intra-operatória de rotina (Blumgart, 1990). Já a incidência de cálculos residuais caiu abaixo de 5% com o uso da colangiografia e/ou coledocoscopia pós-exploração (Blumgart, 1990). Alguns fatores que tentam explicar este dado são abaixo listados:

- # cálculo intra-hepático fixo,
  - # colangiografia executada de maneira insatisfatória,
  - # cálculo não visualizado, apesar de boa colangiografia,
  - # cálculos confundidos com bolhas gasosas
- (Girard et al., 1990).

Existem poucos estudos satisfatórios sobre a avaliação a longo prazo após a exploração cirúrgica de cálculos no colédoco. Em um acompanhamento de 5 anos de 208 pacientes submetidos à colecistectomia e exploração da via biliar principal, realizado na Clínica Mayo, foi constatado 5,3% de seqüelas biliares diversas (Larson et al., 1966). Peel et al., em 1975, informaram uma incidência de 10% de recorrência de litíase em um período de até 12 anos (Blumgart, 1990). Em pacientes portadores de coledocolitíase, com vias biliares dilatadas, e submetidos, simplesmente, à coledocolitotomia e drenagem em T, são encontrados índices de recorrência de cálculos em torno de 18% em até 12 anos (DenBesten et al., 1981). O uso seletivo de procedimentos de drenagem

biliar, através de anastomoses biliodigestivas corretamente indicadas, pode prevenir a recorrência de cálculos no colédoco, uma vez que a estase e a infecção intra-luminal levam à formação de cálculos (Girard et al., 1990).

As dilatações das vias biliares são mais freqüentemente observadas em pacientes com idade avançada (70-80 anos), presumindo-se que a dilatação é dependente do tempo de permanência dos cálculos na luz dos canais biliares (Lygidakis, 1984).

## **4. OBJETIVOS**

## OBJETIVOS

Apesar da extensa bibliografia conferida às fibras do sistema elástico, poucos trabalhos foram direcionados a identificar possíveis mudanças deste sistema frente a processos patológicos, sendo estes, principalmente, relacionados a reação cicatricial e alterações de pele (Kunrath, 1994).

Portanto, devido às alterações histológicas sofridas pelo colédoco na presença de coledocolitíase sintomática, com modificações ultra-estruturais de seus padrões usuais, é objetivo desta dissertação os itens abaixo relacionados:

**\* Verificar a presença ou ausência de fibras elásticas, oxitalânicas e elaunínicas no colédoco supraduodenal humano normal**

**\* Verificar, na vigência de coledocolitíase sintomática, possíveis alterações nos padrões estruturais do sistema elástico do colédoco supraduodenal humano**



## **5. MATERIAL E MÉTODO**

## MATERIAL E MÉTODO

Foram estudadas onze peças do colédoco supra-duodenal humano, sendo que três foram removidas de vias biliares normais e oito fragmentos segmentares de portadores de coledocolitíase. As peças usadas como grupo controle (colédoco normal) foram retiradas de doadores de órgãos em morte cerebral, sendo estas de dois pacientes do sexo masculino (19 e 35 anos) e uma do sexo feminino (31 anos). A doadora do sexo feminino apresentava sepse, enquanto que os doadores do sexo masculino eram pacientes traumatizados (trauma por arma de fogo e trauma por acidente de trânsito), todos sem falência de múltiplos órgãos.

Durante o procedimento de retirada de órgãos, após o clampeamento da aorta supra-renal, era realizada a dissecação da via biliar principal e verificada, através da inspeção e palpação, a ausência de dilatação e/ou litíase biliar. Isto posto, seccionava-se o colédoco supraduodenal e retirava-se um segmento que englobasse todas as camadas da parede coledociana. Com o clampeamento aórtico supra renal foi possível preservar o epitélio coledociano, já que o tronco celíaco, através de seu ramo hepático, mantinha a perfusão da via biliar.

As oito peças de colédoco com litíase foram obtidas em procedimentos cirúrgicos eletivos, dependente de icterícia obstrutiva, com o diagnóstico definitivo de coledocolitíase. Destes pacientes, quatro eram do sexo feminino e quatro do masculino, todos da raça branca, com idade variando de 50 a 68 anos, apresentando média de 62,5 anos. Em todos os casos, o colédoco apresentava-se dilatado, com espessamento da parede, apresentando diâmetro

mínimo de 1,8 cm e máximo de 3,1cm, medidos através da colangiografia trans-operatória (Tabela 1). Diga-se ainda que o tempo mínimo de história como portadores de litíase da via biliar principal era de 06 meses, tendo cada paciente, pelo menos, um episódio febril em vigência de icterícia, caracterizando um quadro clínico de colangite.

O material foi fixado em formol a 10% e encaminhado ao laboratório de patologia para estudo anátomo-patológico em período máximo de 12 horas e ulterior realização da coloração de hematoxilina e eosina. Foram realizados 10 cortes de cada material e estes fixados à lâmina com parafina para posterior coloração seletiva para fibras elásticas. Desta forma, selecionamos duas lâminas de cada caso para as três técnicas de coloração para fibras elásticas, duas lâminas para coloração de hematoxilina e eosina e duas lâminas para coloração específica de colágeno, perfazendo um total de 110 lâminas.

### **Técnicas de Coloração Seletiva para Fibras Elásticas**

#### **# Técnica de Orcinol-Neofucsina (Fullmer & Lillie, 1956)**

Solução previamente preparada, permanecendo as lâminas por um período de 15 minutos a uma temperatura de 37°C. Diferenciação em três porções de álcool a 70% durante 3 a 5 minutos em cada. Desidratação em série crescente de concentração em etanol, xilol e montagem em bálsamo do Canadá.

### # Técnica da Resorcina-Fucsina (Weigert, 1898)

Os cortes foram desparafinados em xilol, hidratados em série decrescente de etanol até a concentração de 80%, sem oxidação prévia, sendo então corados por 30 minutos. Posteriormente, foram lavados em água destilada por um minuto, deixando-se escorrer. Foram diferenciados em álcool a 96%, até clarear o fundo. Desidratados em etanol, xilol e montados em bálsamo do Canadá.

### # Técnica da Resorcina-Fucsina de Weigert com prévia oxidação pela Oxona

Os cortes foram previamente lavados em água destilada, sendo a seguir colocados em contato com a oxona, para oxidação durante 45 minutos. Novamente lavados em água destilada por 5 minutos, passados em etanol a 80%, sendo corados por 60 minutos pela solução de Weigert. Diferenciou-se em álcool a 96%, até clarear o fundo, sendo desidratados em álcool absoluto e em xilol, montando-os em bálsamo do Canadá.

## **Técnica de Coloração para Fibras Colágenas**

### # Técnica de Polarização Picrosirius para estudo do colágeno

As peças fixadas em formol a 10% foram desparafinizadas, hidratadas em água e tingidas durante uma hora numa solução de “Sirium Red” a 0,1% dissolvida em ácido pícrico saturado aquoso. As lâminas foram rapidamente



lavadas em água corrente de torneira e contra-tingidas com hematoxilina de Harris por seis minutos.

O delineamento de pesquisa caracteriza-se como um estudo de caso controle. As peças foram retiradas no período de março a novembro de 1994, em procedimentos cirúrgicos realizados nos hospitais Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre e Hospital de Clínicas de Porto Alegre. O exame das lâminas teve o auxílio exclusivo da microscopia óptica, sendo efetuado no laboratório de histologia da UFRGS no período de janeiro a agosto de 1995.

Foi adotada a divisão de Pereira-Lima (1981) para a estruturação histológica do colédoco supraduodenal humano, constituída por três camadas distintas. A primeira, chamada interna ou mucosa, é formada pelo epitélio e lâmina própria. A segunda, reconhecida como média, é formada por tecido conjuntivo denso e responsável pela espessura real do colédoco. Por fim, a externa, ou adventícia, que engloba a porção de tecido gorduroso e rede vascular.

O arquivo fotográfico se constitui de lâminas com as colorações de hematoxilina e eosina, orcinol-neofucsina, Weigert sem oxidação, Weigert com oxidação e Picrosirius de 01 caso de coledocolitíase e 01 caso do grupo controle. As fotos foram efetuadas através do microscópio Axioskop da Zeiss, com filme Fuji ASA 100.

TABELA 1

GRUPO	COLÉDOCO cm	SEXO	COR	IDADE
CONTROLE	0,8 CM	MASCULINO	BRANCA	19 ANOS
CONTROLE	0,8CM	FEMININO	NEGRA	31 ANOS
CONTROLE	1,0CM	MASCULINO	BRANCA	22 ANOS
LITÍASE	1,8CM	FEMININO	BRANCA	60 ANOS
LITÍASE	1,8CM	FEMININO	BRANCA	66 ANOS
LITÍASE	2,0CM	MASCULINO	BRANCA	68 ANOS
LITÍASE	1,8CM	MASCULINO	BRANCA	50 ANOS
LITÍASE	1,8CM	MASCULINO	BRANCA	66 ANOS
LITÍASE	1,9CM	FEMININO	BRANCA	63 ANOS
LITÍASE	2,0CM	MASCULINO	BRANCA	67 ANOS
LITÍASE	3,1CM	FEMININO	BRANCA	65 ANOS

## **6. RESULTADOS**

## RESULTADOS

### HEMATOXILINA E EOSINA

A análise histológica das lâminas evidenciou tecido coledociano normal nos três casos do grupo controle, sendo diagnosticado, nos oito casos restantes de coledocolitíase, processo inflamatório infiltrativo.

No material de colédocos normais, foi possível a identificação de três camadas: interna, média e externa (Fig. 1). A camada interna é constituída de mucosa com epitélio prismático simples e lâmina própria sub-epitelial de tecido conjuntivo frouxo. A camada média da parede apresenta tecido conjuntivo denso modelado, rico em fibras colágenas, ácinos glandulares e vasos (Fig. 2).

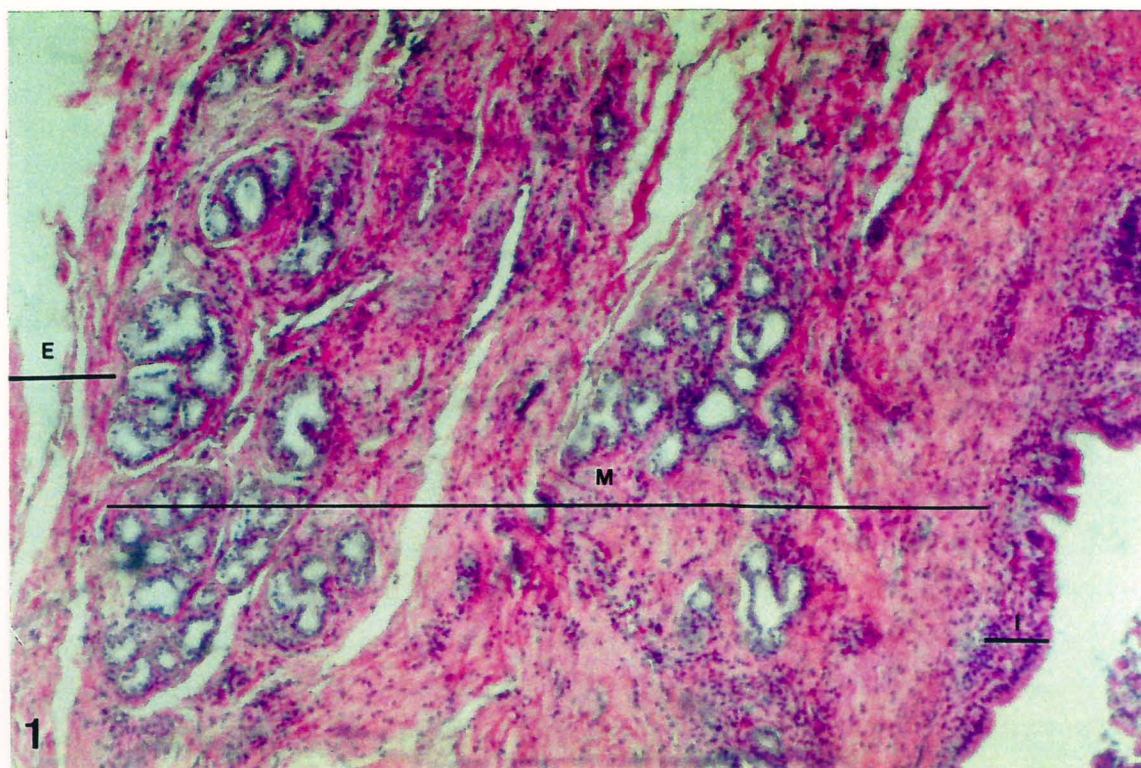
Nos espécimes de coledocolitíase, a técnica de HE permitiu identificar importante espessamento da parede coledociana, basicamente, às custas da camada média, com grande quantidade de feixes de fibras colágenas, exibindo intensa proliferação fibroblástica (Fig. 3). Em relação à camada interna, são observadas alterações histológicas da membrana mucosa, ocorrendo áreas de metaplasia epitelial e adelgaçamento da lâmina própria, além de lacunas ou crateras. Feixes vasculo-nervosos aparecem na camada média, não sendo mais observados ácinos glandulares (Fig. 4). O sistema elástico não é identificado com esta coloração.



Fotomicrografias de cortes transversais da porção supraduodenal do colédoco humano normal, com coloração HE.

Figura 1 - Observam-se as camadas: interna (I), média (M) e externa (E) (40X).

Figura 2 - Observar a camada interna (I), constituída pela mucosa: tecido epitelial prismático simples (seta fina) e lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo (CF). Subjacente a esta mucosa, nota-se uma camada de tecido conjuntivo denso (CD), constituindo a camada média, e algumas glândulas (GL) (100X).

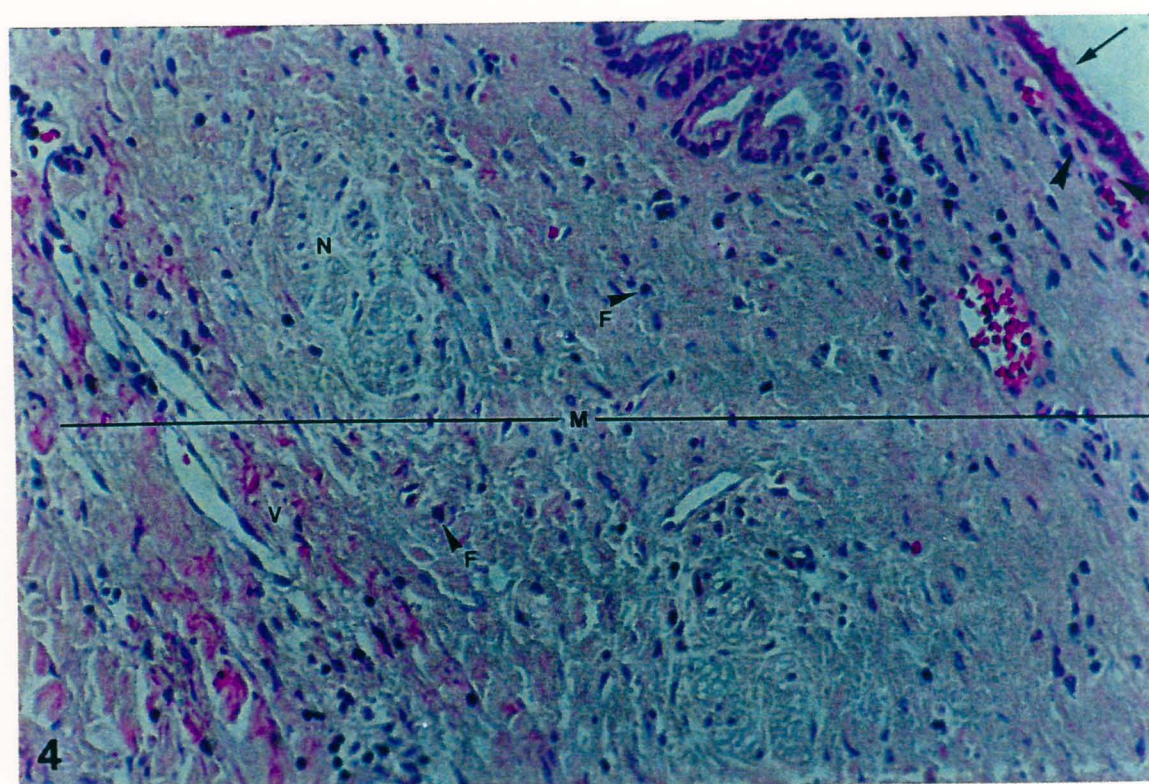
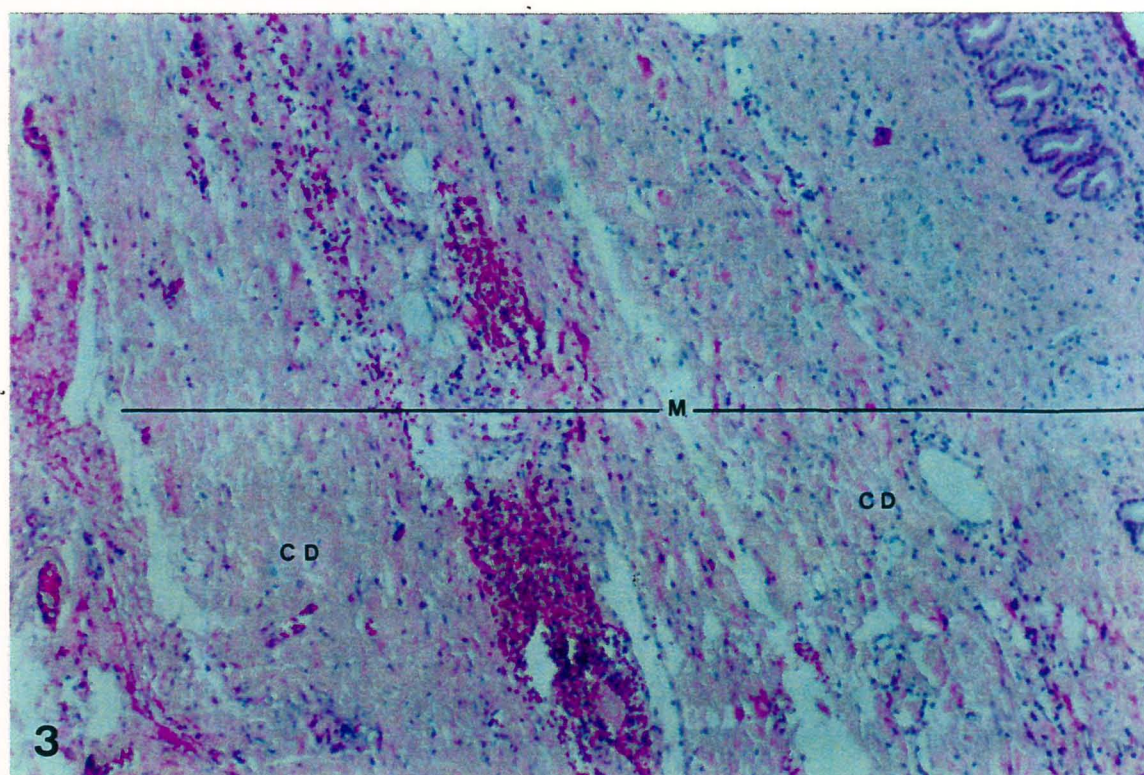




Fotomicrografias de cortes transversais da porção supraduodenal do colédoco humano na coledocolitíase, coloração HE.

Figura 3 - Observa-se nítido aumento da espessura da camada média (M) formada por tecido conjuntivo denso (CD) (40X).

Figura 4 - Observam-se alterações histológicas da membrana mucosa, que exhibe áreas de metaplasia epitelial (seta fina) e adelgaçamento da lâmina própria (cabeças de seta). A camada média (M) exhibe extensa proliferação fibroblástica e fibras colágenas (F). Cortes transversais e oblíquos de nervos (N) e vasos (V) são observados (100X).





## ORCINOL-NEOFUCSINA

A técnica de Orcinol-Neofucsina cora seletivamente as fibras elásticas, demonstrando sua presença tanto no grupo controle como na coledocolitíase, exibindo uma coloração roxa.

No grupo de colédocos normais, foi evidenciada uma rica rede de fibras elásticas situada logo abaixo do epitélio, na lâmina própria, fazendo parte da camada interna. Nas camadas média e externa, não se observam fibras elásticas, encontram-se somente fibras colágenas, que se coram de uma tonalidade menos intensa que as elásticas (Fig. 5 e 6).

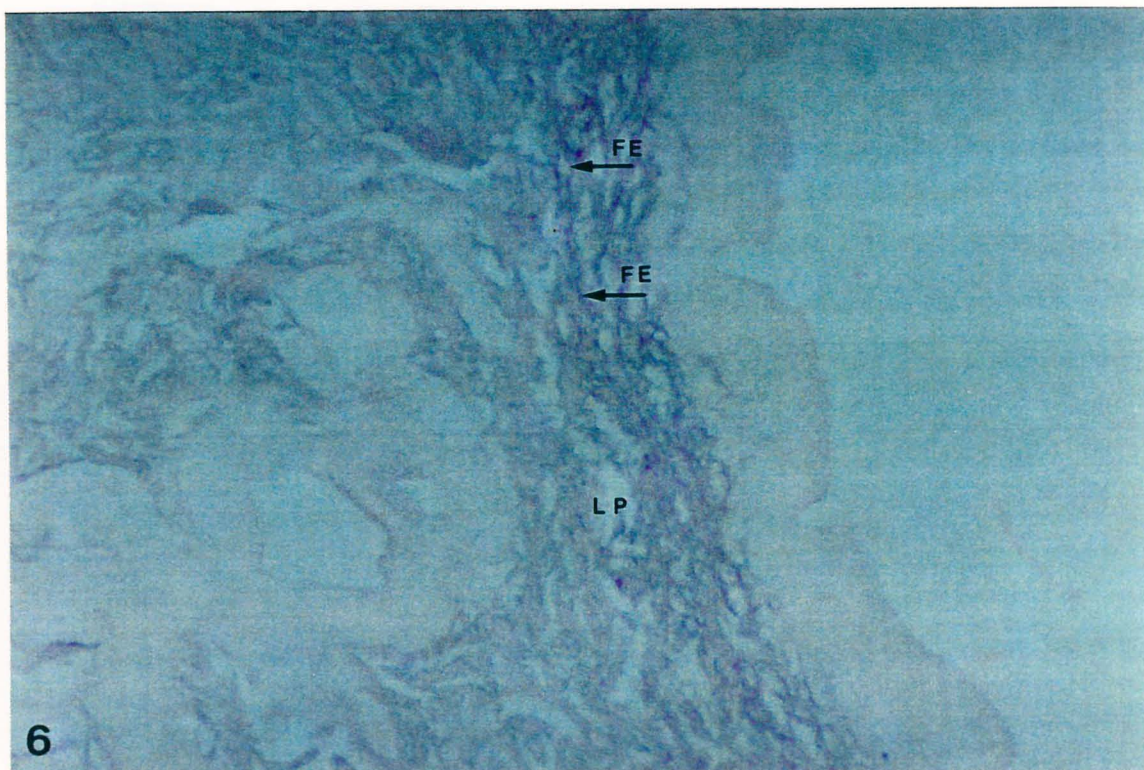
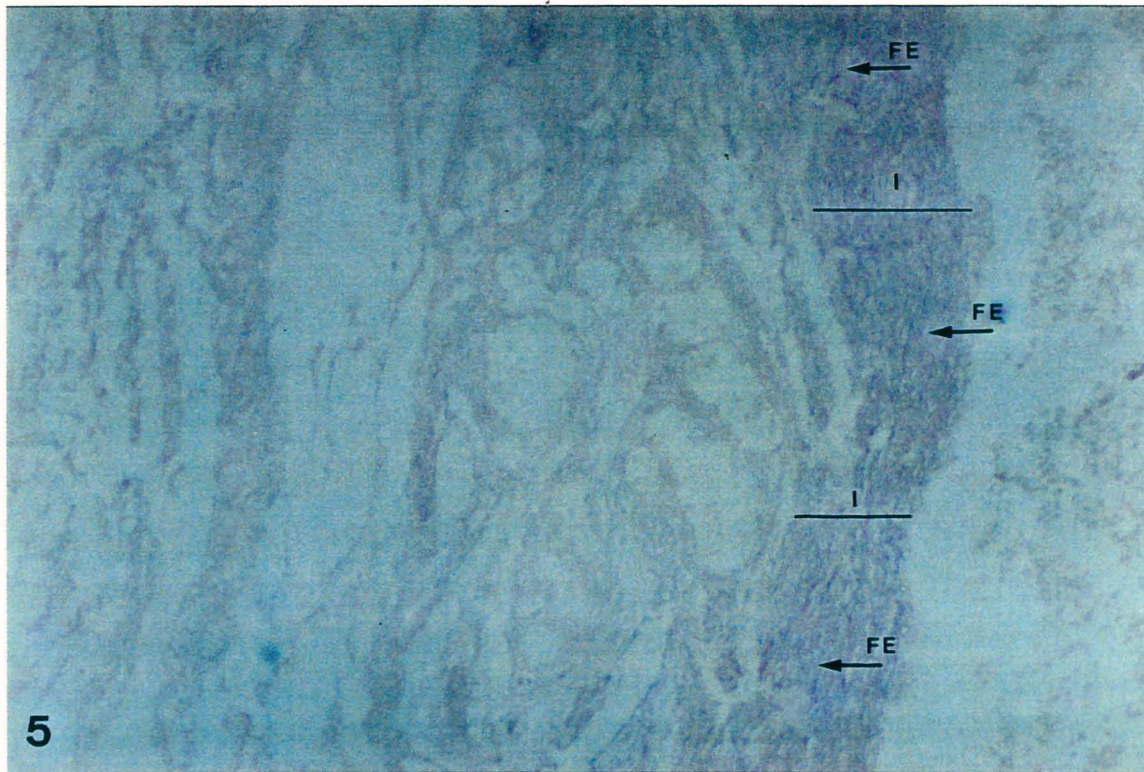
Já no grupo de coledocolitíase, as fibras elásticas são identificadas em grande número, configurando uma nítida hiperplasia. Porém estas fibras não estão localizadas topograficamente de maneira usual, notando-se uma diminuição relativa na lâmina própria da mucosa, quando comparada com o grupo controle. O número de fibras aumenta à medida que chega à camada média em sua porção mais externa, sendo esta camada, praticamente, formada por conspícuas lâminas de fibras elásticas, permeadas por fibras colágenas. A camada externa permanece desprovida de fibras elásticas (Figs. 7 e 8 ).

Fotomicrografias de cortes transversais da porção supraduodenal do colédoco humano normal, coloração ORCINOL NEOFUCSINA.

Figura 5 - Observa-se a presença de fibras elásticas (FE) localizadas, principalmente, na camada interna (I) (40X).

Figura 6 - Observam-se, com maior detalhe, as fibras elásticas (FE) na lâmina própria da mucosa (LP) (100X).



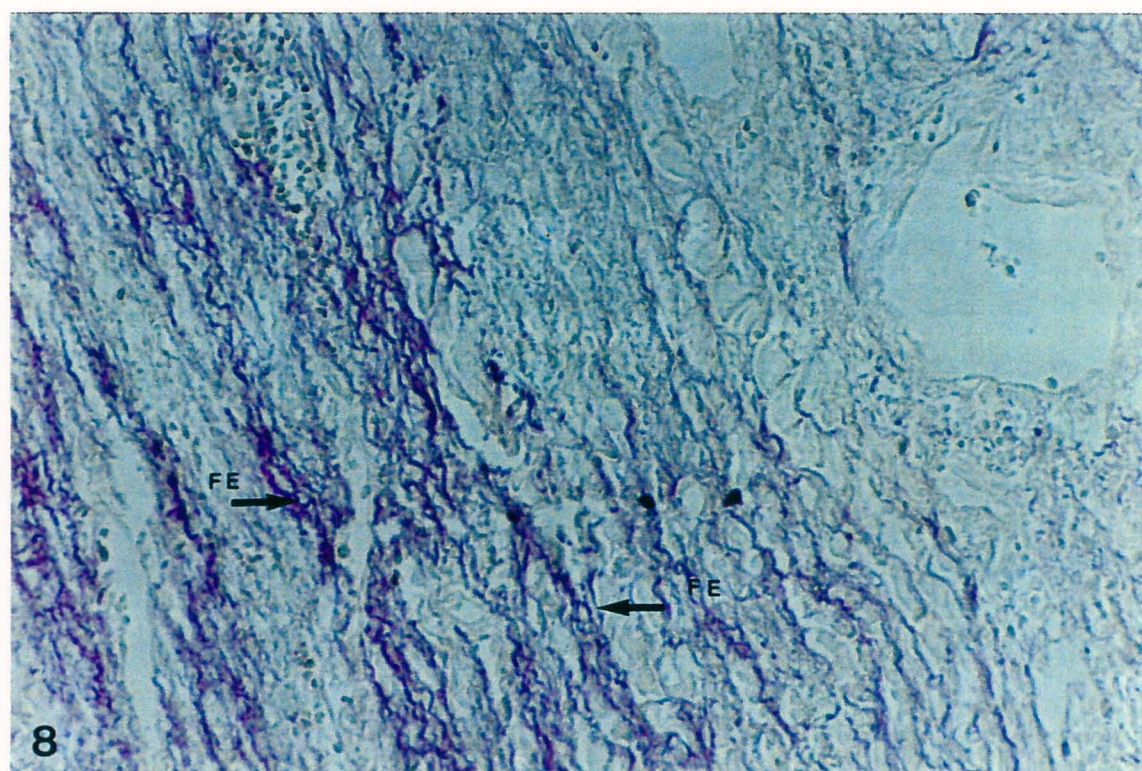
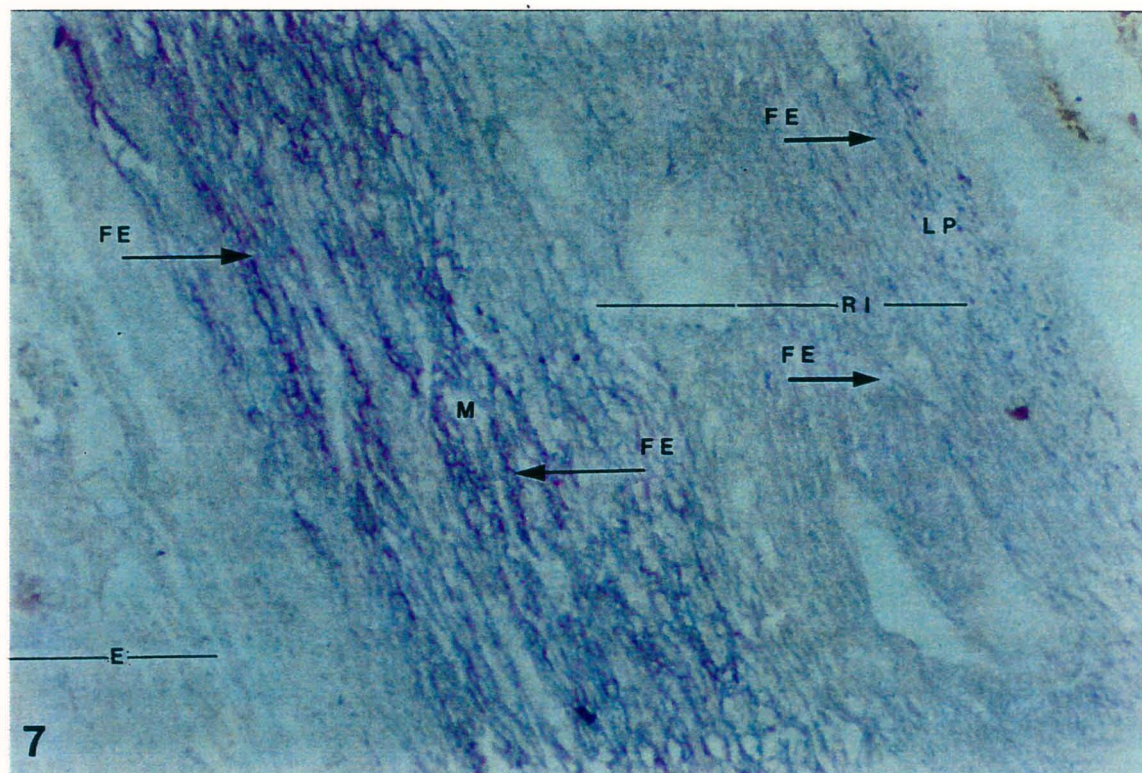


Fotomicrografias de cortes transversais da porção supraduodenal do colédoco humano na coledocolitíase, coloração ORCINOL NEOFUCSINA.

Figura 7 - Observa-se a espessura da camada média (M) nitidamente enriquecida por fibras elásticas (FE), também presentes, em menor quantidade, na lâmina própria (LP) e região interna da túnica média (RI). Na camada externa (E), não são observadas fibras elásticas (40X).

Figura 8 - Observa-se presença marcante de lâminas de fibras elásticas na porção externa da camada média (FE) (100X).







## WEIGERT SEM OXIDAÇÃO

(Resorcina-Fucsina de Weigert)

Com este método foi possível adquirir maior nitidez na identificação das fibras elásticas e também o reconhecimento de outro componente do sistema elástico, as fibras elaunínicas.

Este tipo de fibra apresentou a mesma localização das fibras elásticas, tanto no grupo controle como no patológico, porém a sua presença é marcadamente menor, quando comparada às fibras elásticas.

A localização das fibras elásticas e elaunínicas no colédoco normal se dá na camada interna, preponderantemente restrita à lâmina própria da mucosa. As fibras elaunínicas esboçam uma discreta lâmina sub-epitelial. Na camada média, é encontrada coloração para fibras elaunínicas em torno dos ácinos glandulares (Figs. 9 e 10).

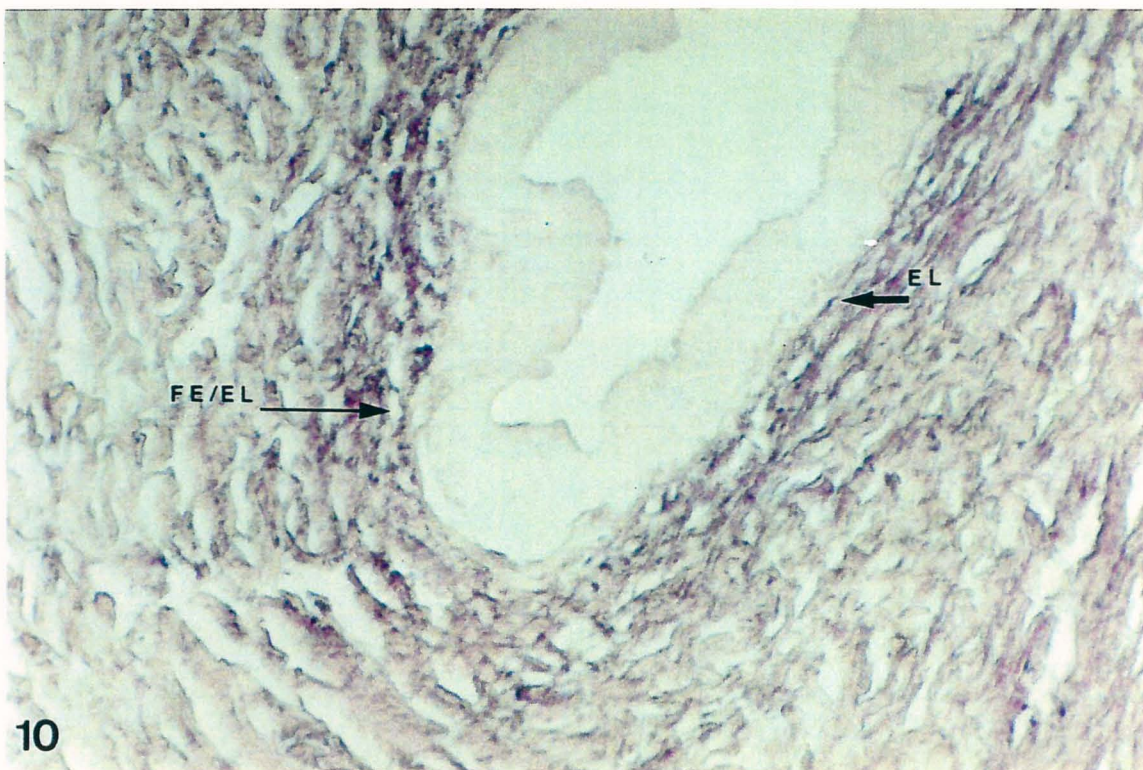
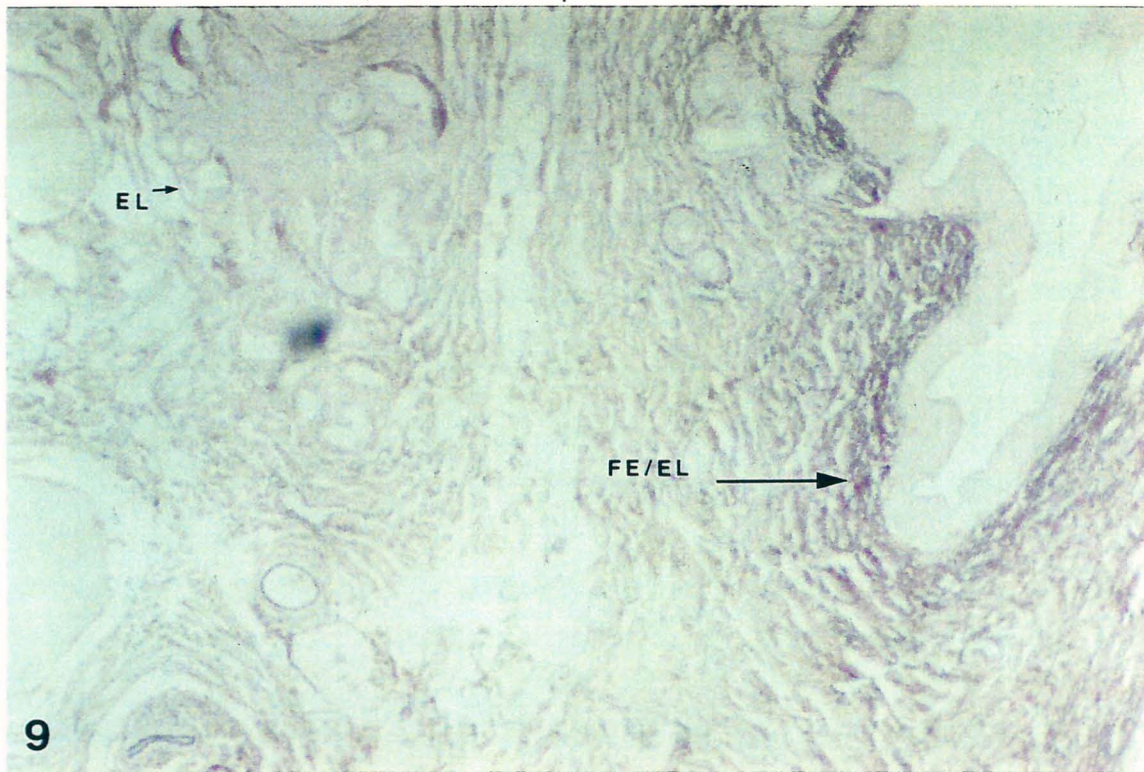
No grupo de coledocolitíase, é encontrada uma lâmina delgada sub-epitelial de fibras elaunínicas. Na porção mais externa da camada média, estas fibras, juntamente com as elásticas, formam camada compacta constituída de lâminas. As fibras elaunínicas emprestam uma maior intensidade à coloração (Figs. 11, 12 e 13).

Fotomicrografias de cortes transversais da porção supraduodenal do colédoco humano normal, coloração RESORCINA-FUCSINA (Weigert sem oxidação).

Figura 9 - Observa-se presença de coloração para fibras elásticas e elaunínicas restrita à lâmina própria da mucosa (FE/EL). Na camada média, nota-se a presença de coloração de fibras elaunínicas (EL) em torno dos ácinos glandulares (40X).

Figura 10 - Observa-se a localização das fibras elásticas e elaunínicas na lâmina própria (FE/EL). Nota-se delgada lâmina sub-epitelial de fibras elaunínicas (EL) (100X).





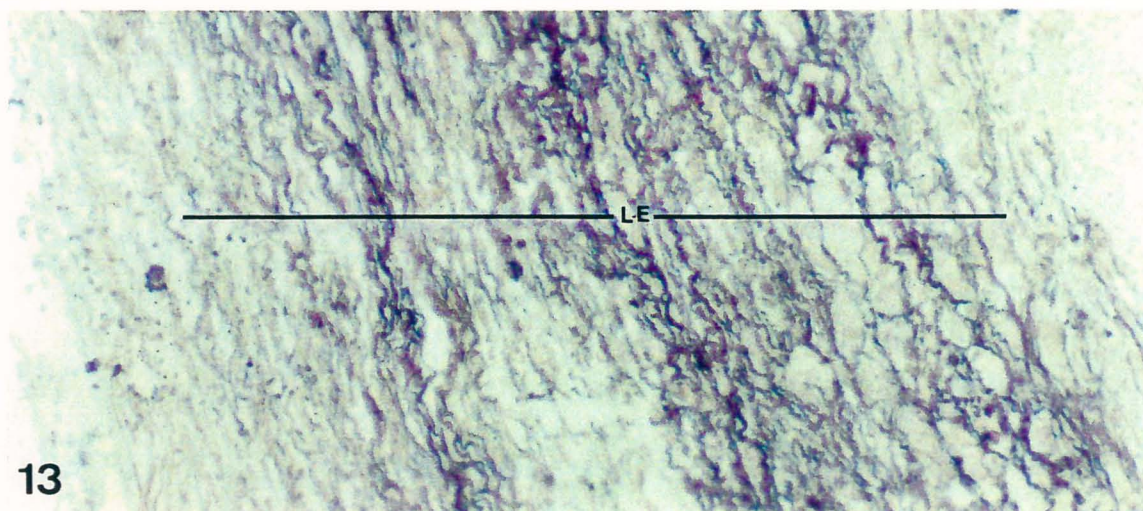
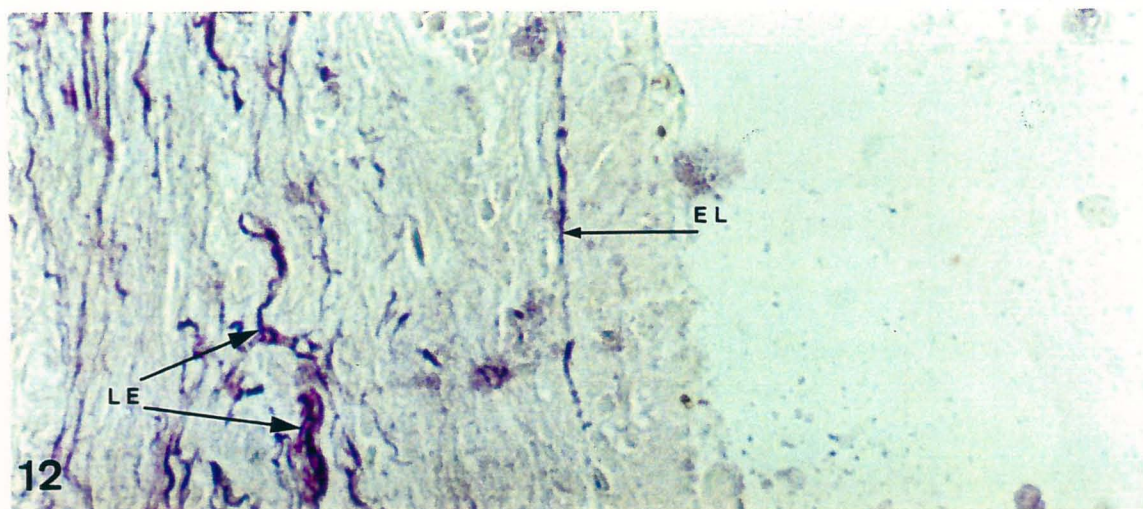


Fotomicrografias de cortes transversais da porção supraduodenal do colédoco humano na coledocolitíase, coloração RESORCINA-FUCSINA (Weigert sem oxidação).

Figura 11 - Observa-se espessa e compacta camada de fibras elásticas e elaunínicas presentes na porção externa da camada média (FE/EL). Estas fibras estão presentes, em menor quantidade, na porção interna da camada média e lâmina própria (seta isolada) (40X).

Figura 12 - Observa-se o destaque da lâmina sub-epitelial de fibras elaunínicas (EL) e lâminas de fibras elásticas na região interna da camada média (200X).

Figura 13 - Observam-se, em detalhe, as lâminas elásticas da camada média em sua porção externa (LE) (100X).





## WEIGERT COM OXIDAÇÃO

(Resorcina-Fucsina de Weigert com oxidação prévia pela Oxona)

Este é um método seletivo que cora todas as fibras componentes do sistema elástico, ou seja, fibras elásticas, elaunínicas e oxitalânicas.

Com esta coloração verificamos a presença das fibras oxitalânicas fazendo parte da estrutura da parede do colédoco supraduodenal humano, contribuindo com maior intensidade de coloração.

O comportamento deste tipo de fibra, no que se refere à sua distribuição, é semelhante ao das demais fibras que compõem o sistema elástico do colédoco. Em colédocos normais, pode-se notar a presença de todas as três fibras na camada interna, principalmente na lâmina própria da mucosa (Fig. 14). A lâmina sub-epitelial, com esta coloração, é mais conspícua. Na camada média, são encontradas nitidamente em torno dos ácinos glandulares (Fig. 15).

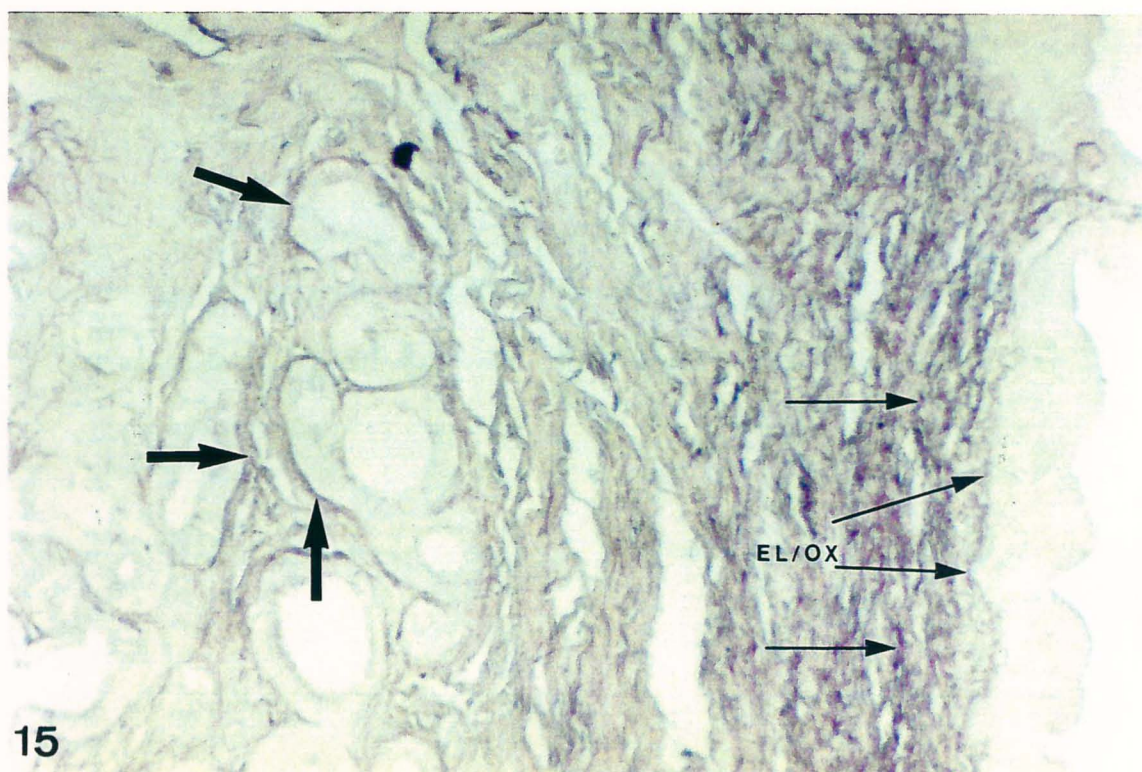
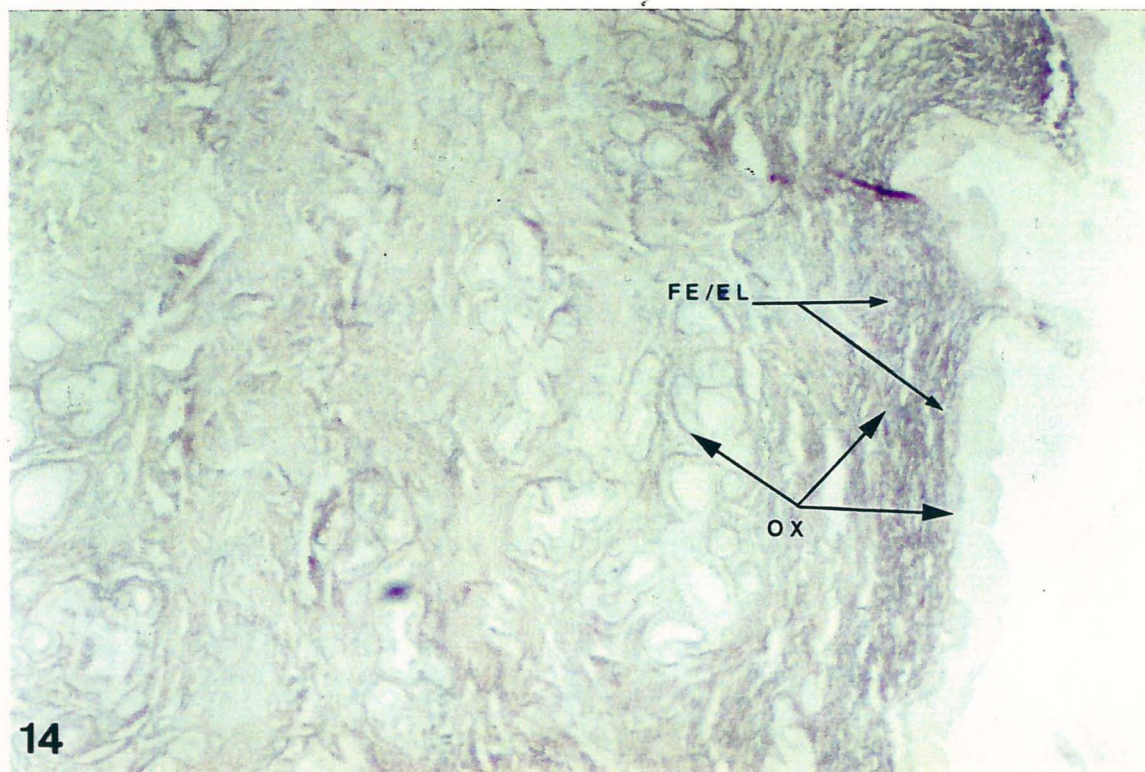
No grupo de coledocolitíase, ficou documentado o evidente reforço da coloração na camada média, principalmente em sua porção interna (Fig. 16 e 18). Também se observa a lâmina elástica sub-epitelial, agora mais evidente, constituída de fibras elaunínicas e oxitalânicas (Fig. 17)

Fotomicrografias de cortes transversais da porção supraduodenal do colédoco humano normal, coloração RESORCINA-FUCSINA COM PRÉVIA OXIDAÇÃO PELA OXONA (Weigert com oxidação).

Figura 14 - Observa-se a presença das fibras do sistema elástico (FE/EL) localizadas na lâmina própria da mucosa. A coloração, na lâmina sub-epitelial e em torno dos ácinos glandulares, é reforçada pelo elemento microfibrilar das fibras oxitalânicas (OX) (40X).

Figura 15 - Detalhe da presença de fibras na lâmina própria (setas finas) e, nitidamente, em torno dos ácinos glandulares (setas espessas). A coloração da lâmina sub-epitelial é agora mais conspícua, pelo provável reforço de coloração devido às fibras oxitalânicas (EL/OX). Raras fibras são observadas nas outras camadas. (100X).





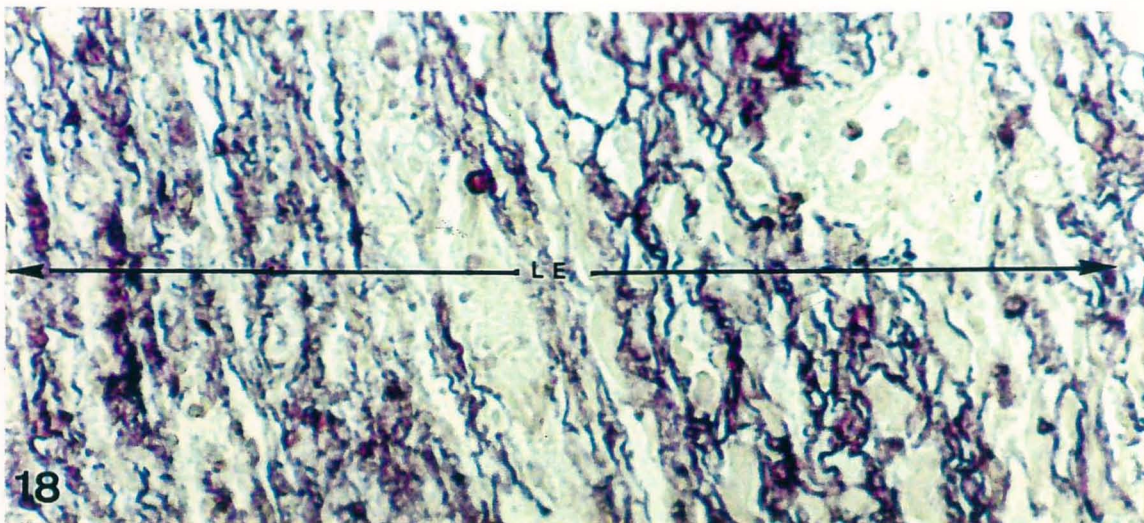
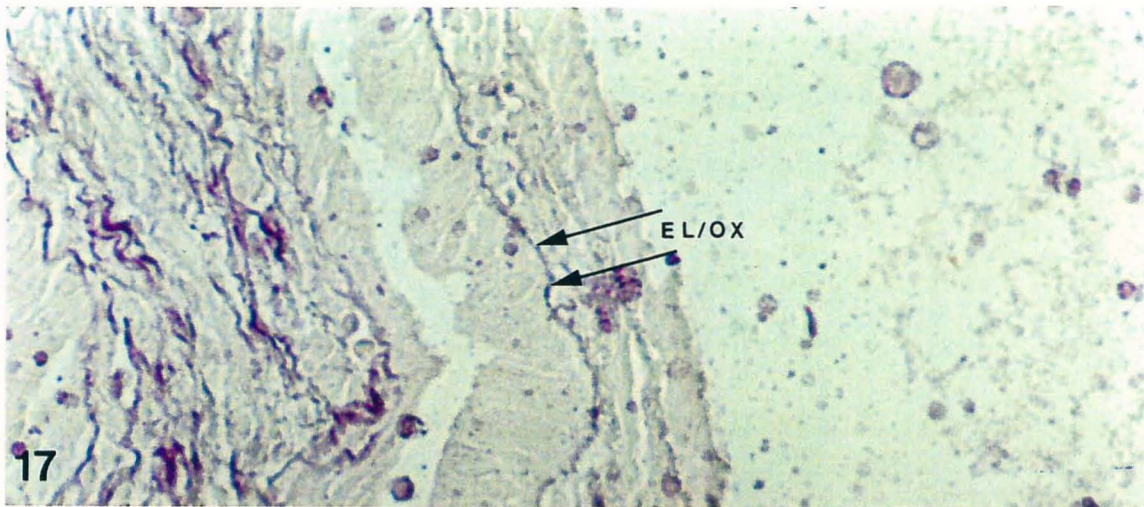
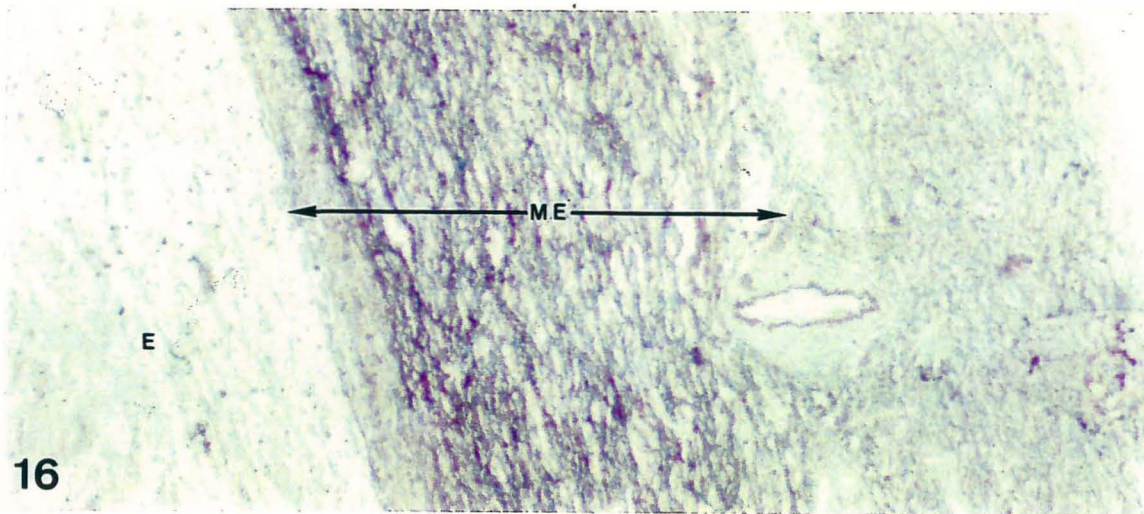
Fotomicrografias de cortes transversais da porção supraduodenal do colédoco humano na coledocolitíase, coloração RESORCINA-FUCSINA COM PRÉVIA OXIDAÇÃO PELA OXONA (Weigert com oxidação).

Figura 16 - Observa-se nítido reforço de coloração na camada média, principalmente, em sua porção externa (ME). Ausência do sistema elástico na camada externa (E) (40X).

Figura 17 - Observa-se detalhe da nítida lâmina sub-epitelial formada pelas fibras elaunínicas e oxitalânicas (EL/OX) (100X).

Figura 18 - Observa-se detalhe das lâminas do sistema elástico na região externa da camada média (LE) (100X).





## **COLORAÇÃO DE PICROSIRIUS COM E SEM POLARIZAÇÃO**

Na coloração de picrosirius sem polarização, o colágeno do tipo I apresenta-se em vermelho rutilante. Observados com luz polarizada, os reflexos amarelo-esverdeados refletem a presença de colágeno tipo III (reticulina). No colédoco normal, a presença de colágeno tipo I é predominante, conferindo a espessura da parede do órgão, enquanto que o de tipo III aparece em menor quantidade e, isoladamente, no endoneuro (Figs. 19 e 20).

Já com o grupo de coledocolitíase observa-se uma diminuição relativa dos feixes de colágeno tipo I, tornando-se menos compacta. Também nota-se a presença maior de colágeno tipo III, ou reticulina, com coloração amarelo-esverdeada (Figs. 21 e 22).

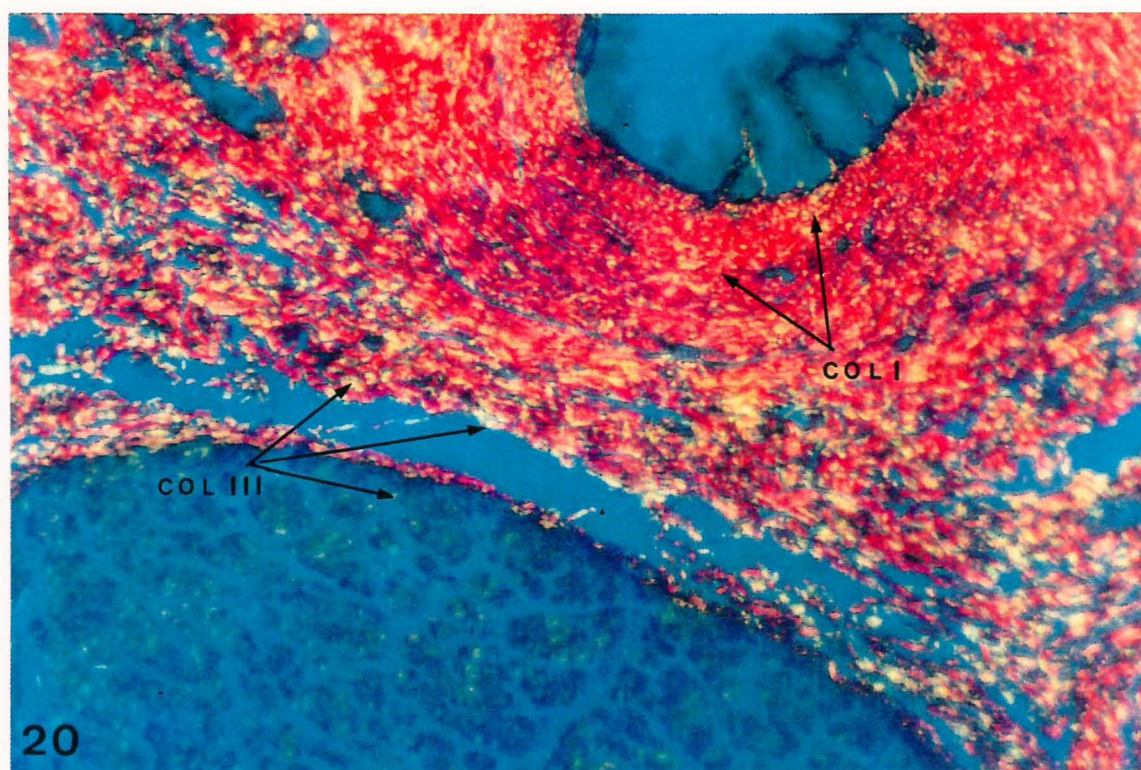
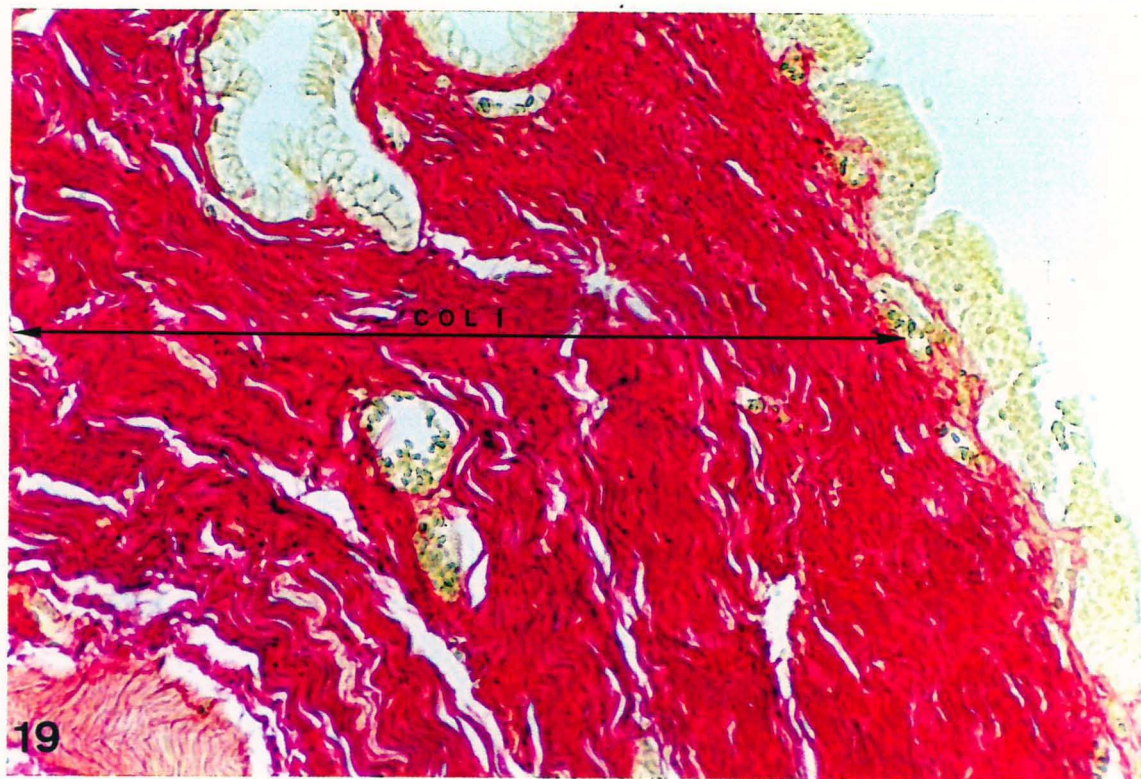


Fotomicrografia de corte transversal da porção supraduodenal do colédoco humano normal, coloração de PICROSIRIUS SEM POLARIZAÇÃO.

Figura 19 - Observa-se a presença de compacta camada de colágeno tipo I, conferindo espessura à parede (COL I) (100X).

Fotomicrografia de corte transversal da porção supraduodenal do colédoco humano normal, coloração de PICROSIRIUS COM POLARIZAÇÃO.

Figura 20 - Observam-se com luz polarizada, os reflexos amarelo-esverdeados refletindo a presença de colágeno tipo III (COL III) e, em vermelho, o colágeno tipo I (COL I) (200X).



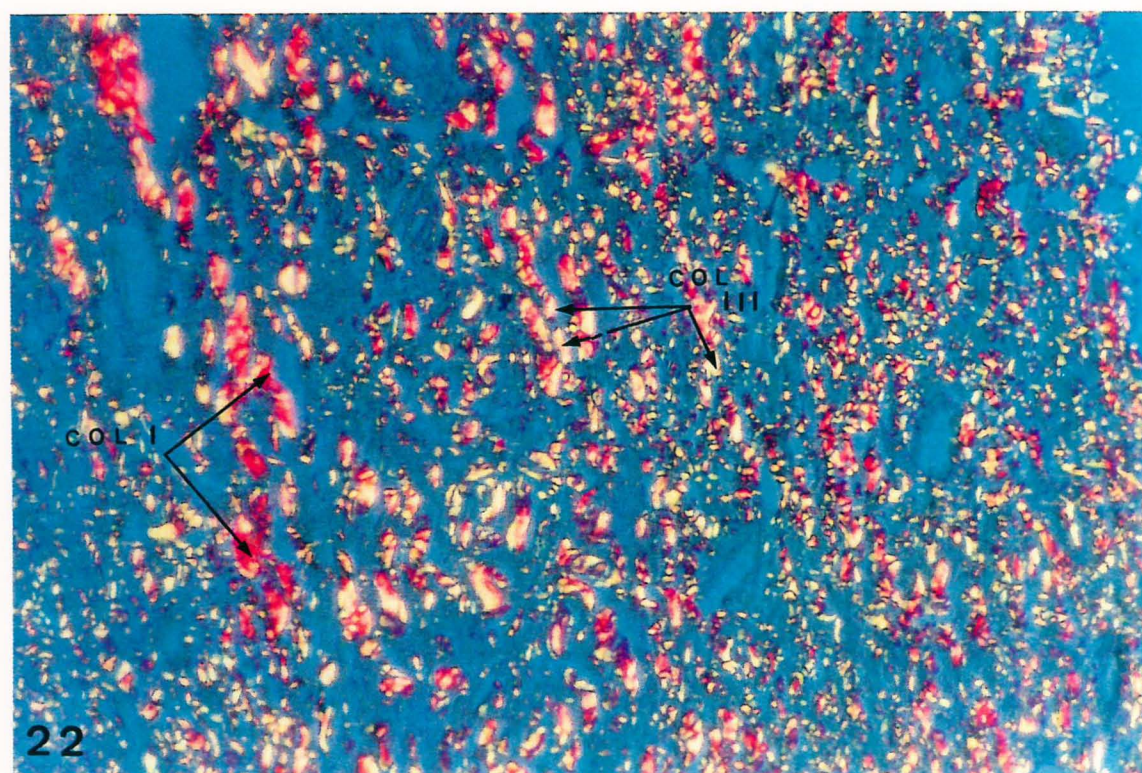
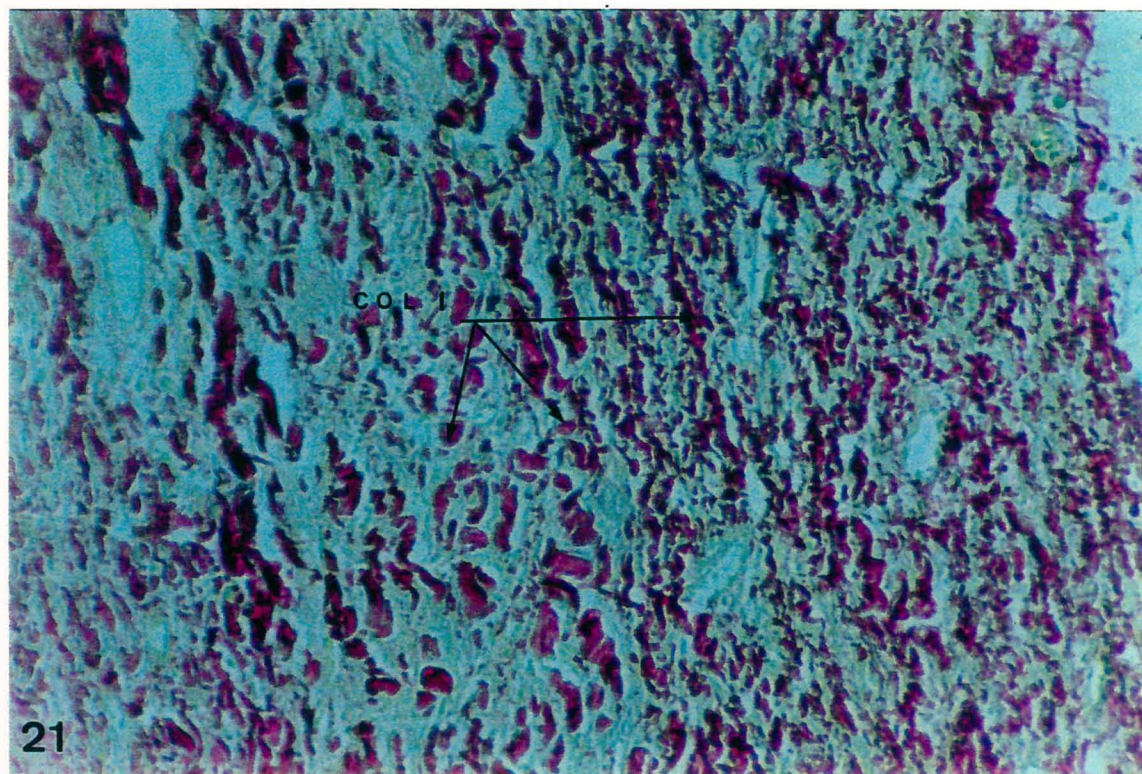


Fotomicrografia de corte transversal da porção supraduodenal do colédoco humano na coledocolitíase, coloração de PICROSIRIUS SEM POLARIZAÇÃO.

Figura 21 - Observa-se diminuição da densidade das fibras de colágeno tipo I (COL I) (100X).

Fotomicrografia de corte transversal da porção supraduodenal do colédoco humano na coledocolitíase, coloração de PICROSIRIUS COM POLARIZAÇÃO.

Figura 22 - Observa-se nítida presença de colágeno tipo III, ou fibra de reticulina, com coloração amarelo-esverdeada (COL III) e colágeno tipo I em coloração vermelha (COL I) (100X).





## **7. DISCUSSÃO**

## DISCUSSÃO

A história natural da coledocolitíase é imprevisível, o que dificulta estabelecer prognósticos em relação à possibilidade de ocorrência de sintomas dependentes da presença de cálculos, por longo período de tempo, na via biliar principal (DenBesten et al., 1981). É sabido que a presença de litíase coledociana provoca alterações de caráter inflamatório, bem como dilatação e espessamento da parede do órgão (Sherlok, 1985). Entretanto, também é verdade que muitos pacientes podem não apresentar quadro clínico compatível com icterícia obstrutiva, apesar de longa evolução da doença.

O diagnóstico de coledocolitíase, em portadores de colelitíase, é encontrado entre 08 a 14% dos pacientes, sendo que destes apenas 40% apresentam sintomas dependentes da presença de cálculos na via biliar principal. Portanto, é possível afirmar que muitos pacientes não apresentarão episódios de icterícia e colangite, nem mesmo dor abdominal, durante o curso evolutivo de sua enfermidade. Isto ocorre devido à via biliar principal apresentar capacidade de dilatação, preservando a permeabilidade luminal e, desta forma, conservando a drenagem biliar (Way et al., 1972; Sherlock, 1985; Blumgart, 1990).

Muitos cálculos pequenos, menores de 03mm, passam através da papila de Vater despercebidos, sendo apenas diagnosticados quando pesquisados nas fezes (Kelly, 1976). Por outro lado, cálculos múltiplos ou de maior diâmetro poderão obstruir o canal em sua porção terminal, acarretando dilatação e espessamento de sua parede, elevando as possibilidades de complicações e

diminuindo a capacidade de resolução espontânea. A dilatação da via biliar ocorre, geralmente, às custas de um processo obstrutivo, seja ele agudo ou crônico, podendo aumentar o diâmetro do colédoco de maneira grosseira (colédocos de diâmetro maior que 3cm). Foi referido, após estudos ultrassonográficos, que o conduto biliar extra-hepático pode apresentar alterações rápidas em relação ao seu tamanho circunferencial frente à obstruções intermitentes (Blumgart, 1990).

Scudamore, em 1985, sugeriu que a via biliar retorna ao seu diâmetro normal em 24 horas, assim que seja instituída sua descompressão, independentemente da técnica utilizada (Blumgart, 1990). Entretanto, Lygidakis, em publicação de 1981, emite opinião divergente, ressaltando que o ducto biliar principal que tenha sofrido edema, infiltração inflamatória, colangite e alterações fibróticas, conserva certa rigidez durante um tempo considerável após sua desobstrução. Justifica ainda que, através do uso de exames radiológicos baritados, foram estudadas séries de pacientes submetidos a anastomose bilio-entérica na vigência de obstrução biliar prolongada, nas quais foi possível denotar as presenças de drenagem insuficiente e anormalidades morfológicas ductais, permanecendo após vários meses de pós-operatório (Lygidakis, 1981; Blumgart, 1990).

Em outros estudos, foi observado que as dilatações e as alterações histopatológicas, decorrentes da obstrução, estão diretamente relacionadas com o tempo de evolução da doença, episódios repetidos de colangites e idade avançada do paciente, além da resposta fibroblástica ao processo obstrutivo (Lygidakis, 1981, 1984).



O colédoco dilatado e com paredes espessadas reflete a dificuldade de escoamento da bile, debris e cálculos. Desta forma, a indicação clássica de anastomose biliodigestiva está naqueles pacientes que apresentam a recidiva de cálculos no colédoco patológico. A calculose coledociana, a perspectiva de longevidade do paciente e a dificuldade de extração de todos os cálculos também constituem indicações para o procedimento de derivação biliar, diminuindo a possibilidade de recidiva de cálculos (Moody, 1981).

É estimado que a incidência de cálculos residuais e recorrentes esteja na faixa de 1 a 2% nos pacientes operados por enfermidade biliar litiásica. Após uma re-operação biliar, a taxa de recorrência pode chegar a 20%, aumentando a cada re-intervenção (Blumgart, 1990).

Os pacientes do presente estudo apresentavam, no mínimo, 06 meses de evolução da doença, sendo todos de idade entre 50 e 68 anos e com história pregressa de quadro clínico compatível com colangite. Todos os pacientes não apresentavam tratamento cirúrgico ou endoscópico prévio sobre o sistema biliar.

Em relação à histologia da via biliar extra-hepática, Pereira-Lima, em 1981, observou a ausência completa de fibrocélulas musculares lisas na parede coledociana, verificando a presença de um epitélio colunar simples, grande número de glândulas, estruturas nervosas, vasos sangüíneos, tecido gorduroso, fibras colágenas (as quais são as responsáveis pela espessura real da parede) e uma rica rede de fibras elásticas abaixo da mucosa. Este padrão histológico

mostrava-se próprio e constante, podendo ser dividido em três camadas: interna, média e externa. Na camada interna, ou mucosa, foram identificadas as fibras elásticas formando uma fina camada, além de vasos sanguíneos e fibras colágenas. A camada média era formada, essencialmente, por colágeno, bem como um grande número de glândulas e vasos sanguíneos. Na camada externa, além do tecido adiposo, foram apreciados feixes nervosos e vasos sanguíneos. As fibras colágenas, as reticulares e as elásticas mostravam pequena representatividade neste local (Pereira-Lima, 1981).

É possível, dessa forma, definir que a estrutura fundamental da parede do colédoco é o tecido conjuntivo, uma vez que as fibras formadoras deste são colágenas e elásticas, sendo que as primeiras encontram-se em maior quantidade do que as elásticas na parede coledociana normal.

Os tecidos deste grupo desempenham as funções de sustentação, preenchimento, defesa e nutrição. Entretanto, as funções de sustentação e preenchimento são tão óbvias que tendem a obscurecer as outras. Os três tipos de fibras diferem entre si através de técnicas de coloração, assim como por suas funções, podendo coexistir em um mesmo tecido (Junqueira e Carneiro, 1990). O maior número de fibras caracterizará a função do tecido, como observado nos tendões, onde as fibras elásticas são predominantes (Junqueira e Carneiro, 1990).



As alterações estruturais observadas em colédocos dilatados, frente a um processo obstrutivo crônico, revelaram características importantes:

- \* Desaparecimento do epitélio colunar simples
- \* Aparecimento de “crateras” na superfície, com metaplasia epitelial
- \* Substituição fibrosa do tecido conectivo sub-epitelial e desaparecimento da população celular
- \* Inflamação inflamatória sub-epitelial
- \* Fibras elásticas com distribuição imprecisa ao longo da parede
- \* Diminuição progressiva do número de fibras elásticas (Cecconello, 1979; Lygidakis, 1981, 1984; Lygidakis et al., 1989).

Os achados de nosso trabalho divergiram em pontos importantes, quando comparados à literatura, principalmente nos aspectos da coledocolitíase, relacionados às fibras do sistema elástico na parede coledociana, as quais são referidas como escassas em presença de obstrução (Cecconello, 1979). Em relação ao grupo controle, foi observado o padrão usual e constante da histologia coledociana, podendo-se destacar o epitélio colunar simples, o qual foi preservado através da técnica de retirada de biópsia com perfusão arterial mantida. A maior concentração de fibras elásticas achava-se na camada interna, em situação sub-epitelial, diferindo de alguns autores que sugerem a presença de componentes elásticos ao nível da camada média da via biliar (Cecconello, 1979; Pereira-Lima, 1981). Já na coledocolitíase dilatada, pode-se conferir que o epitélio permaneceu visível em alguns segmentos, apresentando áreas de metaplasia, porém, em áreas restantes, o mesmo estava substituído por crateras, as quais se estendiam até a



camada média. Também foram facilmente identificados o processo inflamatório e a proliferação fibroblástica, ambos achados relatados na literatura (Lygidakis, 1984).

O espessamento da parede coledociana foi evidente, bem como o desenvolvimento de tecido colágeno, havendo diminuição da população celular ao nível das camadas. Com relação ao tecido elástico, foram identificados os três tipos de fibras componentes deste sistema, as elásticas, elaunínicas e oxitalânicas. Estas fibras sofreram processo de hiperplasia na presença de coledocolitíase.

O sistema elástico já foi amplamente estudado por diversos autores, em diferentes topografias anatômicas do corpo humano (Fullmer et al., 1956; Gawlik, 1965; Cotta-Pereira et al., 1976, Cotta-Pereira, 1977; Trindade, 1990; Oliveira, 1992; Kunrath, 1994; Kunrath et al., 1995).

As fibras elásticas distinguem-se facilmente das fibras colágenas por serem mais delgadas e não apresentarem estriação longitudinal. Ramificam-se e ligam-se umas às outras, formando uma trama de malhas muito irregulares (Oliveira, 1992). Seu componente principal é a proteína elastina, única que contém os aminoácidos desmosina e isodesmosina tratando-se de uma proteína altamente resistente aos ácidos e álcalis livres, bem como à digestão pela tripsina, sendo apenas digerida pela elastase pancreática. Estas fibras são produzidas pelos fibroblastos, condrócitos e fibrocélulas musculares lisas (Junqueira e Carneiro, 1990). Quando submetidas à tração, estiram-se, retornando à sua forma logo que cessa o processo.

As fibras elaunínicas apresentam um comportamento semelhante às elásticas, porém o seu conteúdo de elastina é marcadamente reduzido (Gawlik, 1965). Sua frequência nos tecidos também é menor quando comparada à anterior. Em todas as situações em que as fibras elaunínicas estão presentes, exercem atividades de resistência às forças mecânicas (Kunrath, 1994; Kunrath et al., 1995).

Outra fibra componente do sistema em estudo é a oxitalânica, a qual é resistente à hidrólise ácida. Os estudos de Cotta-Pereira et al., (1976) e Cotta-Pereira (1977), demonstraram, claramente, que este tipo de fibra apresentava apenas o componente microfibrilar, sendo desprovida de elastina. Provavelmente esta fibra seja precursora final da fibra elástica, apresentando função de resistência mecânica, hipótese amplamente aceita por diversos estudos (Robert et al., 1980; Ghadially, 1982; Franzblau et al., 1983).

A célula mais comum do tecido conjuntivo é o fibroblasto, sendo ele o principal responsável pela formação de fibras e material intercelular amorfo (Junqueira e Carneiro, 1990). Estudos de radioautografias examinadas aos microscópios ótico e eletrônico demonstraram que esta célula sintetiza colágeno e também as proteoglicanas da substância fundamental amorfa. No tecido conjuntivo adulto, os fibroblastos não se dividem com frequência, entrando em mitose quando existe um processo de solicitação, como o que ocorre nas lesões do tecido conjuntivo (Junqueira e Carneiro, 1990).

Isto posto, é possível analisar que o processo obstrutivo crônico da via biliar, com reação inflamatória evidente, levará ao aumento do número de



mitoses da célula fibroblástica, havendo, portanto, um incremento de colágeno, fibras reticulares e elásticas, elaunínicas e oxitalânicas.

O sistema elástico na elastose solar foi profundamente estudado (Banfield et al. 1963; Kligman, 1969, 1987; Nürnberger, 1978), averiguando-se uma alteração importante no comportamento das fibras deste sistema. As fibras elásticas tornar-se-iam eosinófilas, com aumento relativo quando comparado ao colágeno. Progressivamente, as fibras se edemaciariam ou se fundiriam, tornando-se estruturas praticamente amorfas, demonstrando assim a importância do processo inflamatório na fibrose colágena (Kligman, 1987).

Kunrath et al., (1995) observaram espessamento de fibras elásticas junto à zona de fibrose colágena de carcinomas baso-celulares nódulos ulcerativos da derme. Também identificaram ausência completa de fibras do sistema elástico na região adjacente à junção dermo-epidérmica nos locais onde se desenvolveu o carcinoma, concluindo que a falta de fibras nestas áreas colabora com a friabilidade tecidual apresentada por este tipo de lesão (Kunrath et al., 1995).

O aumento considerável destas fibras nos leva a entender a capacidade de dilatação e resistência da parede coledociana, tornando possível, na grande maioria das vezes, o trânsito biliar em sua luz. Em casos de obstrução completa, a via biliar pode ultrapassar diâmetros de 3,0cm, sem, no entanto, haver ruptura. Esta hiperplasia confere resistência e elasticidade ao colédoco, muito provavelmente devolvendo sua espessura normal quando é cessado o processo. Mesmo assim, não sabemos se esta fibrose elástica permanece contínua ao longo dos anos, e se a degeneração destas fibras começa a ocorrer,



havendo a substituição por material amorfo, conferindo rigidez à parede coledociana. Além disto, a obstrução prolongada da via biliar leva a complicações graves, muitas delas fatais, sendo imprescindível a instituição de tratamento adequado. Portanto, podemos argüir que a degeneração elástica acontecerá em um período de tempo prolongado, ultrapassando o das possibilidades de complicações.

Em nosso trabalho, foi usada, inicialmente, a técnica de coloração seletiva de orcinol-neofucsina, a qual não cora fibras elaunínicas e oxitalânicas. As fibras elásticas, nos casos de colédocos normais, foram identificadas logo abaixo do epitélio, formando uma delgada trama devido às anastomoses entre si. A evidência deste tipo de fibra também ficou clara nas paredes vasculares. Nos casos de coledocolitíase, as fibras permaneceram em sua posição subepitelial, porém ocorreu hiperplasia na camada média da parede coledociana, espessando-a de forma importante através de lâminas elásticas .

Com as colorações de Weigert sem e com oxidação, foi possível destacar a presença de fibras elaunínicas e oxitalânicas respectivamente. Ambos os tipos se apresentaram de maneira reduzida e mantendo um padrão definido de localização, sendo observadas em torno dos ácinos glandulares e lâmina subepitelial. Os achados de nosso trabalho permitem sugerir que ocorre hiperplasia do sistema elástico na presença de coledocolitíase.

Através da coloração de picrosírius, ficou evidente a existência de tecido colágeno abundante em todas as camadas da parede, principalmente de tipo I, o qual é responsável por funções de resistência a trações, suporte e proteção,

além de representar a maioria de tecido colágeno do corpo humano. Em menor quantidade foi encontrado o de tipo III (fibra de reticulina), precursor do colágeno tipo I e responsável pela manutenção estrutural de órgãos expansivos (Montes et al., 1982, 1991; Junqueira e Carneiro, 1990). Nos espécimes de coledocolitíase, observou-se diminuição relativa de colágeno tipo I, provavelmente devido à marcante hiperplasia das fibras elásticas e a neoformação de fibras de colágeno tipo III, precursora de colágeno tipo I.

A hiperplasia do sistema elástico favorece a distensibilidade da parede, podendo elevar o diâmetro do colédoco de maneira importante, tentando manter a perviedade de seu lúmen. Por outro lado, o aumento da produção de tecido colágeno deverá conservar sua resistência ou até mesmo exacerbá-la, protegendo a parede coledociana da hiperpressão intraluminal, preservando desta forma a integridade da mesma.

É válido ressaltar que não verificamos, na literatura médica revisada, estudo similar sobre o sistema elástico (fibras elásticas, elaunínicas e oxitalânicas) da parede coledociana, em sua apresentação normal e/ou patológica (coledocolitíase).

## **8. CONCLUSÕES**



## CONCLUSÕES

\* A parede coledociana normal apresenta sistema elástico definido, sendo constituído pelos três tipos de fibras: Elásticas, Elaunínicas e Oxitalânicas, localizadas principalmente na lâmina própria da camada interna ou mucosa.

\* O processo inflamatório crônico da via biliar, representado pela litíase, favorece a hiperplasia do sistema elástico e sua neoformação em áreas não observadas no colédoco normal.

\* A hiperplasia é importante e evidente, principalmente ao nível da camada média do colédoco supraduodenal humano na coledocolitíase, às custas, principalmente, das fibras elásticas e, em menor importância, das elaunínicas e oxitalânicas, contrastando, nitidamente, com o colédoco normal, onde a presença de fibras elásticas, nesta camada, é extremamente escassa.

\* Esta importante fibrose elástica não é isolada. Está acompanhada de não menos importante fibrose colágena dos tipos I e III.

## **9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ALLODI, S. Estudo histoquímico e ultra estrutural da relação corpo ciliar-cristalino de *Gallus gallus dom. L.* durante o desenvolvimento embrionário e no animal adulto (Dissertação de Mestrado, ICB, na UFRJ), 1983.
- 2 ANDRADE, M.A., ANDRADE, C.A., VIEIRA, O.M. Coledocolitíase. **J. Bras. Med.**, 13: 310-322, 1967.
- 3 BANFIELD, W.G., BRINDLEY, D.C. Preliminary observations on senile elastosis using the electron microscopy. **J. Invest. Dermatol.** 41: 9-17, 1963.
- 4 BITTENCOURT-SAMPAIO, S., COTTA-PEREIRA, G. Distribuição das fibras elásticas, elaunínicas e oxitalânicas na derme superior em pele humana. **An. Bras. Dermatol.**, 46: 333, 1971.
- 5 BLUMGART, L.H. **Cirugía del hígado y de las vias biliares.** Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires, 1990.
- 6 BOECK, P., STOCKINGER, L. Light and electron microscopic identification of elastic, eulanin and oxytalan fibers in human tracheal and bronquial mucosa. **Anat. Embriol.**, 170: 145-153, 1984.



- 7 CECCONELLO, I. Contribuição ao conhecimento da histopatologia do colédoco (Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto Brasileiro de Estudos e Pesquisas de Gastroenterologia- IBEPEGE- São Paulo), 1979.
- 8 CHAVIER, C., HARTMANN, D.J., COUBLE, M.L. Distribution and organization of the elastic system fibers in the healthy human gingiva- ultrastructural and immunohistochemical study. **Histochemistry**, 89: 47-52, 1988.
- 9 COTTA-PEREIRA, G., BITTENCOURT-SAMPAIO, S. Oxytalan, eulanin and elastic fibers in the human skin. **J. Invest. Dermat.**, 66: 143-148, 1976.
- 10 COTTA-PEREIRA, G. The elastic system fibers. **Adv. Exp. Med. Biol.**, 79: 19-30, 1977.
- 11 COTTA-PEREIRA, G. Contribuição ao estudo das fibras do sistema elástico (Tese para Titular em Histologia e Embriologia da UFRJ), 1984.
- 12 COTTA-PEREIRA, G., IRUELA ARISPE, M.L. Extra cellular matrix: functional significance of oxytalan, eulanin and elastic fibers. **Cells and tissues: three dimensional approach by modern techniques in microscopy**. New York, Alan R. Liss Inc., p. 101-107, 1989.
- 13 DEN BESTEN, L., DOTY, J.E. Patogênese e tratamento da coledocolitíase. **Clin. Cir. Amer. Nort.**, 61: 917-931, 1981.

- 14 DOYLE, P.J., WORD-McQUAID, J.N., McEWEN-SMITH, A. The value of routine per-operative cholangiography: a report of 4000 cholecystectomies. **Brit. J. Surg.**, 69: 617-619, 1982.
  
- 15 FAWCETT, D.W. **BLOOM and FAWCETT. A Text Book of Histology**, 11 ed. Philadelphia, Igaker-Shain Saunders, 1986.
  
- 16 FERREIRA JR., J.M.C., CALDINI, E.G., MONTES, G.S. Distribution of elastic fibers in the peripheral nerves of mammals. **Acta. Anat.**, 130: 168-173, 1987.
  
- 17 FRANZBLAU, Y., FARIS, B. Elastin. In: **Cell biology of extracellular matrix**. (Hay, E., ed.) New York. Plenum Press, p. 65-93, 1983.
  
- 18 FULLMER, H.M., LILLIE, R.D. A selective stain for elastic tissue (orcinol-new fucsin ). **Stain. Technol.**, 31: 27, 1956.
  
- 19 FULLMER, H.M., LILLIE, R.D. The oxytalan fiber: a previously undescribed connective tissue fiber. **J. Hystochem. Cytochem.**, 6: 425-430, 1958.
  
- 20 FULLMER, H.M., SHEETZ, J.H., NARKATES, A.J. Oxytalan connective tissue fibers: a review. **J. Oral. Pathol.**, 3: 291-316, 1974.

- 21 GAWLIK, Z. Morphological and morphochemical properties of elastic system in the motor organ of man. **Folia Hystochem. Cytochem.**, 3: 233-267, 1965.
- 22 GHADIALLY, F.N. **Ultrastructural pathology of the cell and matrix.** (ed.) London, Butterworths, p. 908-14, 1982.
- 23 GIRARD, R.M., LEGROS, G. Cálculos en colédoco: enfoques quirúrgicos. In: **Cirugía del hígado y de las vías biliares.** Vol. 01, editora Panamericana, p. 675-684, 1990.
- 24 GOMORI, G. Aldehyde-fucsin: a new stain for elastic tissue. **Amer. J. Clin. Pathol.**, 20: 665-666, 1950.
- 25 HASEGAWA, J. Oxytalan fibers of the dermal-epidermal junction. **Arch. Dermatol.**, 82: 250-252, 1960.
- 26 HASS, G.M. ( 1939 ). Elastic tissue. **Arch. Pathol.**, 27: 334. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.
- 27 HERNÁNDEZ, N. **Hépto-colédoco-kinesia a la luz de la colangiografía durante la operación** (Original). Córdoba, Imprensa de la Universidad de Córdoba, 1951.



- 28 KELLY, T.R. Gallstone pancreatitis: Pathophysiology. **Surgery**, 80: 488-491, 1976.
- 29 JUNQUEIRA e CARNEIRO. **Histologia Básica**. Ed. Guanabara Koogan. 7ª edição, 1990.
- 30 KLIGMAN, A.M.. Early destructive effect of sunlight on human skin. **JAMA** 210: 2377-80, 1969.
- 31 KLIGMAN, A.M. Connective tissue photodamage in the hairless mouse in partially reversible. **J Invest. Dermatol.** 3(33): S12-7, 1987.
- 31 KUNRATH, S.O. Estudo das fibras do sistema elástico no carcinoma basocelular nódulo-ulcerativo da pele humana exposta ao sol (Dissertação de Mestrado em Dermatologia na Escola Paulista de Medicina) São Paulo, 1994.
- 32 KUNRATH, S.O., ALCHORNE, M.M.de A., MARQUES PEREIRA, J.P. Estudo das fibras do sistema elástico no carcinoma nódulo-ulcerativo da pele humana exposta ao sol. **An. Bras. Dermatol.** 70: 97-101, 1995.
- 33 LARSON, R.E., HODGSON, J.R., PRIESTLEY, J.T. The early and long term results of 500 consecutive explorations of the common duct. **Surg. Gynecol. Obstet.**, 122: 744-750, 1966.

- 34 LUDWICK, J.R. Observations on the smooth muscle and contractile activity of the common bile duct. **Ann. Surg.**, 164: 1041-1050, 1966.
- 35 LYGIDAKIS, N.J. Choledochoduodenostomy in calculous biliary tract disease. **Brith. J. Surg.**, 68: 762-765, 1981.
- 36 LYGIDAKIS, N.J. Histologic changes and intrahepatic biliary abnormalities in extrahepatic biliary tract obstruction. **Surg. Gynecol. Obstet.**, 153: 532-536, 1981.
- 37 LYGIDAKIS, N.J. Incidence and significance of ultrastructural changes in the common bile duct in lithiasis with dilatation of the duct. **Acta Chir. Scand.**, 150: 665-668, 1984.
- 38 LYGIDAKIS, N.J., CARLEI, F. Structural and functional biliary tree changes secondary to extrahepatic biliary obstruction. **Endoscopy**, 21: 321-323, 1989.
- 39 MADDEN, J.L. Common duct stones. **Surg. Clin. North Am.**, 53, 1973.
- 40 McSHERRY, C.K., GLENN, F. The incidence and causes of death following surgery of non-malignant biliary tract disease. **Ann. Surg.**, 191: 271-275, 1980.

- 41 MIRIZZI, P.L. Cirurgia de la litíase biliar: In: **Curso de Perfeccionamiento** (ed. 3ª) Córdoba, Imprensa de la Universidad de Córdoba, 1945.
- 42 MONTES, G.S., JUNQUEIRA, L.C.U. Biology of Collagen. **Rev. Can. Biol. Expériment.**, 41: 143-156, 1982.
- 43 MOODY, F.G. Aplicações cirúrgicas da esfínteroplastia e coledocoduodenostomia. **Clin. Cir. Amer. North.** 61(4): 933-946, 1981.
- 44 MONTES, G.S., JUNQUEIRA, L.C.U. The use of the picrosirius-polarization method for the study of the biophatology of collagen. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 86, Suppl. III, 1991.
- 45 MYERS, R.N. Cinefluorographic observantions of common bile duct physiology. **Ann. Surg.**, 156: 442-450, 1962.
- 46 NEGRI, A. Estrutura normal del sistema de conduccion. In: **La histofisiopatologia de las vias biliares**. Buenos Aires, Aniceto Lopes, cap. 04, p. 100-106, 1941.
- 47 NURNBERGER, F., SCHOBBER, E., MARSCH, W.C., DOGLIOTTI, M. Actine elastosis in black skin. A ligth and electronmicroscopy study. **Arch. Dermatol. Res.** 262: 7-14, 1978.



- 48 OLIVEIRA, V.F. Distribuição das fibras oxitalânicas, elaunínicas e elásticas na mucosa do bulbo duodenal humano normal (Dissertação de Mestrado em Gastroenterologia na UFRGS), 1993.
- 49 PEEL, A.L.G., BOWKE, J.B., HERMON, T.J. How should the common bile duct be explored ? **Ann. Royal Coll. Surg. Engl.**, 56: 124-134, 1975.
- 50 PERA, C., FERNANDEZ-CRUZ, L. Bases anatómicas y fisiológicas de la cirugía del colédoco terminal. In: **Patologia del colédoco terminal**. Barcelona, editora Científico Médica, volume oito de la serie problemas actuales de la cirugía clínica, cap.01, p.1-76. 1970.
- 51 PEREIRA-LIMA, L. As bases histológicas da dinâmica coledociana. **Rev. AMRIGS**, 16(2): 181-184, 1972.
- 52 PEREIRA-LIMA, L. Contribuição ao estudo da histologia fundamental do colédoco supra duodenal humano (Dissertação de Mestrado em Gastroenterologia na UFRGS), 1981.
- 53 PINOTTI, H.W. Coledocolitíase. Observações clínico-radiológicas. **Atual. Gastroenterol.**, 2: 34-45, 1978.
- 54 POLICARD, A., COLLET, A. Physiologie du tissu conjonctif normal e pathologique. Paris, Masson et Cie., p. 110-26. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.

- 55 ROBERT, L., ROBERT, A.M. Elastin elastase and arteriosclerosis. In: **Biology and pathology of elastic tissues**. Basileia S., Karger vol 8, p. 130-73, 1980.
- 56 RODRIGO, F.G., COTTA-PEREIRA, G. The fine structure of the elastic tendons in the human arrector pili muscle. **Br. J. Dermatol.**, 93: 613-617, 1975.
- 57 ROSS, R., BORNSTEIN, P. The elastic fiber. The separation and partial characterization of its macromolecular components. **J. Cell. Biol.**, 40: 366-381, 1969.
- 58 SAHARIA, P.C., ZUIDEMA, G.D., CAMERON, J.L. Primary common duct stones. **Ann. Surg.**, 185: 598-603, 1977.
- 59 SAMPSON, W.J. A comparative light microscopic evaluation of oxytalan fiber staining with a variety of dye substances. **Stain. Technol.**, 54: 181-191, 1979.
- 60 SCHWARTZ, S.I. **Princípios de cirurgia**. Ed. Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro, 1987.
- 61 SHERLOCK, S. **Disease of the liver and biliary system**. (ed. 7<sup>a</sup>) Blackwell Cientific Publications, 1985.

- 62 STERLING, J.A. Anatomy. In: **The biliary tract**. Baltimore, Williams e Wilkins, cap. 02, p. 12-56, 1955.
- 63 TRINDADE, M.R.M. Fibras do sistema elástico na lâmina própria da mucosa gástrica humana normal: evidência histoquímica e ultra estrutural de fibras oxitalânicas e elaunínicas (Dissertação de Mestrado em Gastroenterologia na UFRGS), 1990.
- 64 UNNA, P.G. Über die Tänznersche Färbung des elastischen Gewebe. **Manastsschr. Prokt. Dermatol.**, 11: 367. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.
- 65 VERHOEFF, F.H. Some new staining methods of wide applicability. Including a rapid differential stain for elastic tissue. **J. Am. Med. Ass.**, 50: 876-877. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.
- 66 WAKUI, S., KAWAGUCHI, N., FURUSATO, M. Sub-epitelial elastic system fibers of obliquo mucosal folds in the rat proximal colon. **Acta. Anat.**, 141: 119-126, 1991.
- 67 WAY, L.W., ADMIRAND, W.H., DUMPHY, J.E. Management of choledocholithiasis. **Ann. Surg.**, 176: 347-349, 1972.
- 68 WEIGERT, K. Über eine Methods zur Färbung elastischen Fasern. **Zentralbl. Allg. Pathol. Anat.**, 9: 289-292. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.